

**MITOCHONDRIALE VERERBUNG BEI
SACCHAROMYCES CEREVISIAE:
ZUR TRANSMISSION UND REKOMBINATION
MITOCHONDRIALER GENE
IN ABHÄNGIGKEIT VON DER RHO-MUTATION
IN TEMPERATUR-SENSIBLEN MUTANTEN**

Barbara Backhaus

1977

MITOCHONDRIALE VERERBUNG BEI SACCHAROMYCES CEREVISIAE:

ZUR TRANSMISSION UND REKOMBINATION MITOCHONDRIALER

GENE IN ABHÄNGIGKEIT VON DER RH° MUTATION IN

TEMPERATUR-SENSIBLEN MUTANTEN

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereichs Biologie

der Ludwig-Maximilians-Universität, München

vorgelegt von

Barbara Backhaus

geb. Smidt

München 1976



1. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Kaudewitz
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Cleve

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 5. 1977

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	1-4
MATERIAL UND METHODEN	5-11
1) Stämme	5
2) Abkürzungen	5
3) Medien	6
4) Methoden	8
a) Isolierung der temperatursensiblen atmungs- defekten Mutanten	8
b) Wachstumskurven und Bestimmung der tem- peraturabhängigen Bildung atmungsdefekter Zellen	8
c) Analyse von Kreuzungen mit den temperatur- sensiblen atmungsdefekten Mutanten	9
d) Tetradenanalyse	11
ERGEBNISSE	12-46
I. Genetische Charakterisierung der vier temperatursensiblen atmungsdefekten Mutan- ten	13
1) Bestimmung des Vererbungsmodus der Mutan- ten	13
2) Komplementationstest	14
II. Phänotypische Ausprägung der temperatur- sensiblen atmungsdefekten Mutationen	15
III. Einfluß der temperatursensiblen atmungs- defekten Mutationen auf den Output mito- chondrialer Kreuzungen	18

1) Mitochondriale Kreuzungen nach Züchtung der ts-Mutanten bei 23°C	20
a) Homosexuelle Kreuzungen	20
b) Heterosexuelle Kreuzungen	22
2) Homosexuelle Kreuzungen mit den ts-Mutan- ten nach Züchtung bei 36°C	23
3) Heterosexuelle Kreuzungen mit den ts-Mu- tanten nach Züchtung bei 36°C	27
4) Relation zwischen der temperaturabhängigen rho ⁻ Induktion und dem Abfall der Trans- missionshäufigkeit mitochondrialer Marker	29
IV. Vergleich der Kreuzungsanalysen mit einem theoretischen Modell der Segregation und Rekombination mitochondrialer Gene	31
1) Aussagen des Modells	31
2) Computeranalyse der experimentellen Ergeb- nisse und Berechnung der Parameter des Modells	36
a) Homosexuelle Kreuzungen	37
b) Heterosexuelle Kreuzungen	41
c) Positive Koinzidenz, beobachtet in homo- sexuellen drei-Faktor-Kreuzungen	44
DISKUSSION	47-54
FIGUREN UND TABELLEN	55-106
LITERATURVERZEICHNIS	107-113
ZUSAMMENFASSUNG	114-115

E I N L E I T U N G

Das Mitochondrion ist eine genetisch teil-autonome Organelle der Eukaryontenzelle; ihr Erbträger ist eine DNS, deren Größe bei verschiedenen Organismen zwischen 10×10^6 Daltons (z.B. Mäusezellen) und 60×10^6 Daltons (z.B. *Saccharomyces cerevisiae*) beträgt (Borst, 1972; Sager, 1972). Die Kodierungskapazität dieser mitochondrialen DNS (mitDNS) umfaßt bei *Saccharomyces cerevisiae* schätzungsweise 100 Gene (Bernardi, 1976). Die Vielzahl der Proteine jedoch, die das Mitochondrion mit seinen funktionellen Komponenten der Atmungskette und oxidativen Phosphorylierung aufbauen, erfordert eine sehr viel höhere Zahl kodierender Einheiten.

In Übereinstimmung damit sind bei *Saccharomyces cerevisiae* nicht nur in der mitDNS, sondern auch in der Kern-DNS zahlreiche Mutationen nachgewiesen worden, die den "petite" Phänotyp, d.h. Atmungsdefizienz der sie tragenden Zellen bewirken (Ephrussi, 1953; Ephrussi et al., 1955; Handwerker et al., 1973; Slonimski und Tzagaloff, 1976; Sherman, 1963; Weislogel und Butow, 1970; Burkl et al., 1976). Die Mehrzahl der in Kern-Genen nachgewiesenen petite-Mutationen bedingen den Ausfall einzelner Komponenten der Atmung und Phosphorylierung (z.B. Cytochrom c; Schatz und Mason, 1974), während die spontan sehr häufig auftretenden Mutationen in der mitDNS einheitlich pleiotrope Ausfälle zahlreicher mitochondrialer Funktionen hervorrufen (z.B. Cytochrom $a+a_3$, b, c_1 ; Schatz und Mason, 1974).

Mutanten des letztgenannten Typs werden allgemein als rho⁻

bezeichnet; sie zeigen teilweisen oder völligen Verlust der mitDNS (Goldring et al., 1970; Nagley und Linnane, 1970). Soweit ρ^- Mutanten mitDNS zurückbehalten, weist diese Makrodeletionen auf, die mehr als 90% des Genoms umfassen und durch intramolekulare Reiterierung und Bildung redundanter Moleküle ursprünglicher Länge (20-25 μ) kompensiert werden können (Faye et al., 1973; Locker et al., 1974a,b).

Die Verfügbarkeit einer Reihe mitochondrialer Mutationen zur Resistenz gegen die Antibiotika Chloramphenicol, Erythromycin, Spiramycin, Oligomycin, Paromomycin und Venturicidin (vgl. Dujon und Michaelis, 1974; Gillham, 1974) und die Kenntnis der Segregation und Rekombination mitochondrialer Marker ermöglichten es, den Verlust mitochondrialer genetischer Information durch die ρ^- Mutation und die Vererbung in ρ^- mitDNS zurückbehaltener Marker zu untersuchen (Deutsch et al., 1974; Dujon et al., 1975; Schweyen et al., 1976a,b,c).

Spontan treten ρ^- bei den meisten Stämmen der Bäckerhefe mit Häufigkeiten von ca. 1% auf. DNS bindende und -interkalierende Substanzen wie z.B. Ethidium Bromid steigern die Häufigkeit der ρ^- bis nahe 100%.

Diese Befunde haben verschiedene Autoren dazu angeregt, Hypothesen zum Mechanismus der ρ^- Mutation aufzustellen: Clark-Walker und Miklos (1974) und Bernardi (1976) postulieren Rekombinationsereignisse zwischen homologen Regionen, z.B. A-T reichen Sequenzen innerhalb eines mitDNS Moleküls

oder zwischen verschiedenen Molekülen, die zur Bildung kleinerer Moleküle führen. Veränderung der Anheftungsstelle der mitDNS an die mitochondriale Membran werden von Williamson (1970), Störung der Replikation der mitDNS von Carnevali et al. (1969) vorgeschlagen.

Um Einblick in den Prozess der Entstehung atmungsdefekter Zellen zu gewinnen, wurden bisher eine Reihe biochemischer Untersuchungen durchgeführt mit a) karyotisch vererbten kältesensiblen Mutanten (Weislogel und Butow, 1970, 1971; Butow, 1973), und b) einer mitochondrial vererbten, temperatursensiblen Mutante (Handwerker et al., 1973; Bandlow et al., 1975; Bandlow, 1976; Bechmann et al., 1977), die bei der unerlaubten Temperatur eine erhöhte Instabilität des rho-Faktors aufweisen. In diesen Mutanten wurden Veränderungen von Komponenten der inneren mitochondrialen Membran beschrieben.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten genetische Untersuchungen durchgeführt werden, die zur Klärung der Frage nach dem Vorgang der rho⁻ Bildung beitragen. Eine Untersuchungsmöglichkeit wäre, Stämme mit sehr hoher rho⁻ Mutationsrate mit solchen zu vergleichen, die nur mit sehr geringer Häufigkeit rho⁻ Zellen bilden. Da mehrere genetische Faktoren die Stabilität des rho-Faktors beeinflussen können, ist es möglich, daß auch mehrere Mechanismen an der Bildung von rho⁻ Mutanten beteiligt sind. Um sicherzustellen, daß hauptsächlich ein Faktor zur Wirkung kommt, wurden Mutanten isoliert, die konditionell eine hohe Instabilität des rho-Faktors aufweisen.

Vier temperatursensible atmungsdefekte Mutanten, nämlich M12/8 mit der mitochondrialen Mutation tsm-8 (temperatursensibel mit⁻; Handwerker et al., 1973; Schweyen und Kaudewitz, 1976) und M12/20, M12/25 und M12/30 mit den karyotischen Mutationen tsp-20, tsp-25 und tsp-30 (temperatursensibel pet⁻) wurden für die Untersuchungen verwendet. Diese Mutanten bilden innerhalb eines kurzen Zeitraums des Wachstums bei 36°C bis 100% rho⁻ Zellen.

Die kernkodierte atmungsdefekte Mutanten (pet⁻ Mutanten), die von Sherman (1963) beschrieben wurden, können bei keiner Temperatur im stabilen rho⁺ Zustand gehalten werden. Im Gegensatz dazu zeigen die ts-Mutanten tsm-8, tsp-20, tsp-25 und tsp-30 nur bei der unerlaubten Temperatur eine erhöhte Instabilität des rho-Faktors. Sie sind daher sehr geeignet, Veränderungen der mitochondrialen DNS während des Ablaufs der rho⁻ Mutation zu analysieren.

Der Vorgang der rho⁻ Bildung wurde anhand von drei Parametern verfolgt: a) der Kinetik der Bildung von rho⁻ Zellen, b) der Fähigkeit der einer rho⁻ Mutation ausgesetzten Zellen, mitochondriale Marker in Zygoten und ihren diploiden Nachkommen zu transmittieren und c) der Häufigkeit der Rekombination der einer rho⁻ Induktion ausgesetzten mitDNS mit rho⁺ mitDNS der Kreuzungspartner.

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

1) STÄMME

Die Stämme der Hefe Saccharomyces cerevisiae, die in dieser Arbeit verwendet wurden, sind in Tabelle 1 aufgeführt. Sie tragen mitochondriale Mutationen, die Antibiotika Resistenz bedingen gegen Chloramphenicol (C_{321}^R ; Coen et al., 1970), Erythromycin (E_{221}^R ; Coen et al., 1970), Oligomycin (O_1^R ; Avner et al., 1973) und Paromomycin (P_{454}^R ; Kutzleb et al., 1973), sowie ein Allel, das für temperatur-sensible Atmungsdefizienz verantwortlich ist (T_8^S ; Handwerker et al., 1973).

Alle KL- und IL-Stämme wurden freundlicherweise von Dr. P.P. Slonimski und Dr. B. Dujon zur Verfügung gestellt. Die Nomenklatur der mitochondrialen Mutationen wurde übernommen von Avner et al. (1973) und Wolf et al. (1973).

2) ABKÜRZUNGEN

ρ^+ / ρ^-	atmungskompetenter/atmungsdefekter Zustand der mitochondrialen DNS
C^R / C^S	mitochondriale Allele des RIB1 Genortes, die Chloramphenicol Resistenz / Sensitivität bedingen
E^R / E^S	mitochondriale Allele des RIB3 Genortes, die Erythromycin Resistenz / Sensitivität bedingen
O^R / O^S	mitochondriale Allele des OLI1 Genortes, die Oligomycin Resistenz / Sensitivität bedingen

P^R / P^S	mitochondriale Allele des PAR1 Genortes, die Paromomycin Resistenz / Sensitivität bedingen
T^R / T^S	mitochondriale Allele des TSM1 Genortes; T^R ist das Wildtyp Allel, T^S der Mutationsort, der temperatursensible Atmungsdefizienz bedingt
ω^+ / ω^-	mitochondrialer Genort, der die Rekombination zwischen mitochondrialen DNS Molekülen beeinflusst
mitDNS . .	mitochondriale DNS, auf der diese Marker lokalisiert sind

3) MEDIEN

a) YPD - Medium

Yeastextrakt	10g
Universalpepton	10g
Agar (Difco)	15g
Glukose	30g
H ₂ O dest.	ad 1 Ltr.

Glukose wurde nach dem Autoklavieren steril zugegeben.

b) YPG - Medium

wie YPD-Medium, aber statt Glukose 30ml Glyzerin

c) YPGD - Medium

YPG-Agar mit 0,1% Glukose

d) Antibiotika - Medien

YPG-Agar

Phosphatpuffer 50mM pH 6,2

Antibiotika in den folgenden Konzentrationen:

Chloramphenicol (Bayer, Leverkusen)	4mg/ml
Erythromycin (Boehringer, Mannheim)	2mg/ml
Oligomycin (Serva)	3µg/ml
Paromomycin (Park, Davis & Co)	2mg/ml

e) YNE - Agar (Minimal-Agar)

Difco Yeast Nitrogen Base	7g
Agar (Difco)	15g
Glukose	30g
H ₂ O dest.	ad 1 Ltr.

f) Acetat-Agar (Sporulationsmedium)

Na-Acetat	4g
Agar (Difco)	15g
H ₂ O dest.	ad 1 Ltr.

g) Flüssigmedien

Für Flüssigmedien wurden die selben Medien wie beschrieben verwendet, nur ohne Zusatz von Agar.

h) Phosphat-Puffer 1M, pH 6,2

KH ₂ PO ₄	408,27g	ad 3 Ltr. H ₂ O
Na ₂ HPO ₄	283,92g	ad 2 Ltr. H ₂ O

Lösungen mischen und pH einstellen.

i) Tris-Maleat-Puffer 0,2M, pH 6,0

A: Tris-Hydroxymethyl-Aminomethan	24,2g
Maleinsäure	23,2g
H ₂ O dest.	ad 1 Ltr.

B: 0,2n NaOH

Lösung A und B im Verhältnis 50ml/26ml mischen, mit

H₂O auf 200ml auffüllen.

Alle Chemikalien wurden, wenn nicht anders angegeben, von der Firma Merck, Darmstadt, bezogen.

4) METHODEN

a) Isolierung der temperatursensiblen atmungsdefekten

Mutanten

Zellen des Stammes M12 wurden in YPD-Medium bis zur stationären Phase vorgezüchtet, gewaschen und in Tris-Maleinsäure-Puffer pH6,0 aufgenommen (Endkonzentration 1×10^8 Zellen/ml). Nach mehrstündigem Belüften wurden die Zellen mit dem Mutagen N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (100µg/ml) 60 Minuten lang inkubiert, danach sofort gewaschen und in YPD-Medium zu einem Titer von 1×10^6 Zellen /ml aufgenommen. Nach einer Zwischenbebrütung von 3-5 Zellgenerationen wurden die Zellen auf YPD-Medium plattiert. Kolonien, die auf diesen Platten heranwuchsen, wurden auf eine YPD- und zwei YPG-Platten gestempelt, YPD- und eine YPG-Platte bei 36°C, die andere YPG-Platte bei 23°C bebrütet. Kolonien, die bei 23°C auf beiden Medien wuchsen, bei 36°C aber nur auf Glukosemedium zum Wachstum befähigt waren, wurden als temperatursensible atmungsdefekte Mutanten abisoliert. Aus Glukosemedium können Hefezellen sowohl durch Atmung als auch durch Gärung Energie gewinnen, während Glyzerin nur veratmet werden kann. Fehlendes Wachstum auf Glyzerinmedium bei 36°C zeigt demnach an, daß Mutationen konditionell einen Defekt in den Funktionen der Mitochondrien bewirken.

b) Wachstumskurven und Bestimmung der temperaturabhängigen

Bildung atmungsdefekter Zellen

Zellen der temperatursensiblen atmungsdefekten Mutanten wurden in YPD-Medium bei 23°C bis zur frühen stationären

Phase vorgezüchtet. Nach Überimpfen der Zellen in flüssiges YPD- oder YPG-Medium zu einem Anfangstiter von etwa 5×10^5 Zellen/ml wurden die Kulturen 2-3 Generationen bei 23°C unter starker Belüftung bebrütet. Danach wurden diese geteilt, eine Hälfte bei 23°C , die andere Hälfte bei 36°C belüftet. Vermehrung der Zellen konnte durch Messung der optischen Dichte in einem Eppendorf Photometer bei einer Wellenlänge von 578nm bestimmt werden. Verdoppelung der Extinktion wurde als Wachstum einer Zellgeneration definiert.

Nach verschiedenen Zeiten wurden Proben entnommen, geeignet verdünnt und etwa 100 Zellen/Platte auf YPGD-Medium plattiert. Nach 3-5 Tagen Bebrüten bei 23°C wurde der Anteil an atmungsdefekten Kolonien bestimmt. Auf differentielltem Medium wachsen atmungskompetente Zellen zu grossen Kolonien heran, während atmungsdefekte Zellen wegen der limitierenden Glukosekonzentration (0,1%) nur Minikolonien bilden können.

c) Analyse von Kreuzungen mit den temperatursensiblen atmungsdefekten Mutanten

Zellen der ts-Mutanten, die mitochondriale Resistenzmarker in verschiedenen Kombinationen trugen, wurden wie zuvor beschrieben gezüchtet. Nach verschiedenen Zeiten wurden Zellproben sofort mit einem geeigneten, in YPG vorgezogenem Testerstamm mit konträrer Kombination mitochondrialer Resistenzmarker gekreuzt. Zur Kontrolle der Reinheit der haploiden Stämme wurde je ein Tropfen Suspension auf YPG 23°C , YPG 36°C und Minimalagar 23°C ausgetropft.

Etwa 1×10^7 Zellen jedes Kreuzungspartners wurden gemischt und in 2-3ml flüssigem YPD-Medium aufgenommen. Nach Zentrifugation (5min, 3000 rpm) blieb das Kreuzungsge-
misch (Pellet und Überstand) 3-4 Stunden stehen. In dieser Zeit tritt Zygotenbildung ein, die durch den engen Kontakt der Zellen im Pellet unterstützt wird. Danach wird der Überstand abgegossen, die Zellen in 10ml Minimalmedium aufgenommen, und 0,1ml dieser Suspension auf Minimalagar plattiert, als Kontrolle für eine ausreichende Zygotenbildung (etwa 10^3 Zygoten/ml). Nach 3-4 Tagen Wachstum ohne Belüftung wurde die Suspension geeignet verdünnt und etwa 50 Zellen/Platte auf Minimalagar plattiert. Die Anzahl der Generationen (10-15), die zwischen der Zygotenbildung und dem Plattieren liegen, reichen aus, um durch mitotische Segregation aus den heteroplasmischen Zygoten weitgehend homoplasmische Segreganten zu bilden.

Die semi-anaeroben Kulturbedingungen wurden gewählt, um selektives Wachstum bestimmter mitochondrialer Zelltypen möglichst gering zu halten.

Die diploiden Kolonien wurden auf YPG-C, YPG-E, YPG-O oder YPG-P gestempelt und bei 23°C 3-5 Tage bebrütet (Unterscheidung zwischen Antibiotika resistenten und sensiblen Kolonien), oder auf zwei YPG Platten gestempelt, von denen eine bei 23°C und eine bei 36°C bebrütet wurde (Unterscheidung zwischen temperatursensiblen und temperatur-resistenten Kolonien).

Um die Darstellung der Ergebnisse mitochondrialer Kreuzungen der Literatur anzugleichen, wurden die einzelnen Zelltypen in den Tabellen unabhängig von ihrem eigentlichen

Genotyp in homosexuellen Kreuzungen nach ihrer Herkunft vom a oder α Elterntyp, und in heterosexuellen Kreuzungen nach ihrer Herkunft vom ω^+ oder ω^- Elterntyp aufgeführt. Diese Darstellung erlaubt einen direkten Vergleich der verschiedenen Versuchsserien, unabhängig von der Kombination der mitochondrialen Marker.

d) Tetradenanalyse

Zur Tetradenanalyse wurden diploide Zellen (Gewinnung wie im Abschnitt zuvor beschrieben) in flüssigem YPD-Medium anaerob bis zur stationären Phase vorgezüchtet. Die Zellen wurden abzentrifugiert, gewaschen und in 0,3ml Wasser als dicker Tropfen auf Acetatagar gegeben. Innerhalb von 3-5 Tagen tritt Sporulation ein.

Zur Analyse der Tetraden wurden diese in 1ml Wasser suspendiert und 15 Minuten mit 50 μ l Helicase (Boehringer, Mannheim) inkubiert, um die Askuswände anzudauen. Von dieser Suspension wurde ein Tropfen auf YPD-Agar ausgetropft und ausgestrichen. Die vier Sporen eines Askus wurden mit Hilfe eines Mikromanipulators (Leitz) von der Askuswand befreit und auf der Agarplatte verteilt. Nach 3-5 Tagen Bebrüten bei 23°C wuchsen die Sporen zu Kolonien heran, die durch Stempeln auf Selektivmedien auf ihren Paarungstyp, ihre Auxotrophien und mitochondriale Marker getestet wurden.

ER G E B N I S S E

Untersuchungen bei Saccharomyces cerevisiae, die Mutationen mitochondrialer Funktionen betreffen, werden durch die hohe Instabilität des rho-Faktors vieler Stämme erschwert. Um diese Schwierigkeiten möglichst gering zu halten, wurde für die Isolierung der temperatursensiblen atmungsdefekten Mutanten als Ausgangsstamm der Wildtyp M12 gewählt, da bei diesem nur mit geringer Häufigkeit spontan rho⁻ Zellen auftreten (etwa 1×10^{-4} rho⁻ Zellen/Zellgeneration). Induziert wurden die Mutanten durch das Mutagen N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin. Folgendes Schema zeigt die Kriterien der Mutantensuche:

	Koloniebildung	
	23°C	36°C
Glukosemedium	+	+
Glyzerinmedium	+	-

Diejenigen Zellen, die bei 23°C, der erlaubten Temperatur sowohl auf Glukose- als auch auf Glyzerinmedium Kolonien bilden, bei 36°C, der unerlaubten Temperatur, aber nur noch Glukose als Energiequelle verwenden können, wurden als temperatursensible atmungsdefekte Mutanten isoliert. Dieses Wachstumscharakteristikum zeigt an, daß durch eine oder auch mehrere Mutationen konditionell Funktionen der Atmung betroffen sind, da Glyzerin nur veratmet, Glukose aber auch vergoren werden kann.

Für die folgenden Untersuchungen wurden vier ts-Mutanten ausgewählt, die Mutante M12/8 mit der mitochondrialen

Mutation tsm-8 (diese Mutante wurde von A. Handwerker (Doktorarbeit) nach dem gleichen Schema isoliert), und M12/20, M12/25 und M12/30 mit den ts-Mutationen tsp-20, tsp-25 und tsp-30.

I. Genetische Charakterisierung der vier 'temperatursensiblen atmungsdefekten Mutanten

1) Bestimmung des Vererbungsmodus der Mutationen

Handwerker et al. (1973) charakterisierten die Mutation tsm-8 als extrakaryotisch vererbt. Durch Rekombinationsanalyse und Deletionskartierung (Schweyen und Kaudewitz, 1976; Schweyen et al., 1976a) ist es eindeutig gelungen, die Mutation tsm-8 zwischen dem PAR1 Genort und dem RIB1/RIB3 Segment der mitochondrialen DNS zu lokalisieren.

Zwischen karyotischer und extrakaryotischer Vererbung der drei weiteren Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 konnte in den folgenden Experimenten unterschieden werden:

- a) Bei Kreuzung der ts-Mutanten M12/20, M12/25 und M12/30 mit dem ρ^+ Wildtypstamm SM505-3C waren alle diploiden Nachkommen (mit Ausnahme seltener ρ^-) atmungskompetent (Tab. 2).
- b) Wurden die ts-Mutanten M12/20, M12/25 und M12/30 mit dem ρ^0 Stamm IL126-2A/52, einem Stamm ohne nachweisbare mitDNS gekreuzt, so waren unter den diploiden Nachkommen keine ts-Kolonien zu finden (Tab. 2).
- c) Während der Meiose der diploiden Segreganten einer $ts^- \times \rho^+$ Kreuzung spalteten die ts-Allele unter den

vier Sporen einer Tetrade 2:2, bzw. 2:1 oder 1:2 auf (Tab. 3). Die Ausnahme in der Kreuzung CM3C-2D/tsp-30 x IL216-1B (Aufspaltung 3:1) kann durch Reprimierung des temperatursensiblen Phänotyps durch andere Kern-gene erklärt werden.

Diese Ergebnisse sind nicht mit den Kriterien extrakaryo-tischer Vererbung, wie mitotische Segregation, d.h. häufige (bis 50%) Aufspaltung der diploiden Segreganten in atmungs-kompetente und temperatursensible atmungsdefekte Zellen, und phänotypische 4:0 bzw. 0:4 Aufspaltung der vier Sporen einer Tetrade, zu vereinbaren. Die drei Mutationsorte tsp-20, tsp-25 und tsp-30 sind demnach im Kern lokalisiert und rezessiv.

2) Komplementationstest

Bei Kreuzung der verschiedenen tsp-Mutanten miteinander zeigten alle diploiden Nachkommen den atmungskompetenten Phänotyp (Tab. 4). Die drei karyotischen Mutanten können somit komplementieren und sind nicht identisch. Eine Unter-scheidung, ob es sich um Mutationsorte im gleichen oder in verschieden Genorten handelt, konnte nicht getroffen werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden: vier Mutanten, die konditionell eine hohe Instabilität des rho-Faktors zeigen, wurden für die Untersuchungen dieser Arbeit ausgewählt. Eine der Mutationen tsm-8 wird mitochondrial, die drei anderen tsp-20, tsp-25 und tsp-30 werden karyotisch ver-

erbt, sind rezessiv und nicht identisch. Da bei allen vier Mutanten Revertanten auftreten, kann angenommen werden, daß es sich um Punktmutationen und nicht um Deletionen handelt. Alle vier Mutationen beeinflussen Funktionen der Mitochondrien. Ob sie in ihrer Wirkungsweise gleich sind, soll in den folgenden Untersuchungen geprüft werden.

II. Phänotypische Ausprägung der temperatursensiblen atmungsdefekten Mutationen

Die Wachstumscharakteristika der mitochondrialen Mutante tsm-8 wurde bereits ausführlich von Handwerker et al. (1973), Bandlow (1976), Schweyen und Kaudewitz (1976) und Bechmann et al. (1977) beschrieben.

Ähnliches Verhalten zeigen auch die drei karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30:

In Glyzerinmedium wachsen die Mutanten bei 23°C normal. Werden die Zellen dagegen bei 36°C gezüchtet, hört das Wachstum nach 1-2 Zellgenerationen auf, nachdem die Wachstumsgeschwindigkeit leicht stimuliert wurde (Fig. 1). Eine Zunahme des prozentualen Anteils an rho⁻ Zellen konnte weder bei 23°C noch bei 36°C beobachtet werden. Die Mutationsrate ist im Vergleich zum Wildtyp aber leicht erhöht (etwa 2-5% rho⁻ Zellen/Zellgeneration).

In Glukosemedium vermögen die ts-Mutanten bei beiden Temperaturen normal zu wachsen. Wachstum bei 36°C bewirkt aber eine drastische Erhöhung der rho-Faktor Instabilität.

Innerhalb von etwa 7 Generationen entstehen mehr als 90% atmungsdefekter Zellen (Fig. 2). Die höhere Temperatur ist nicht allein verantwortlich für die ρ^- Bildung. Vermehrung der Zellen scheint zusätzlich erforderlich zu sein, da in Glyzerinmedium bei der unerlaubten Temperatur, einer Bedingung, durch die Zellvermehrung unterbunden wird, keine atmungsdefekten Mutanten induziert werden.

In Zusammenarbeit mit S. Mathews und R.J. Schweyen (Schweyen et al., 1976b) wurde bestimmt, daß es sich bei den induzierten atmungsdefekten Mutanten um ρ^- Zellen mit Deletionen in der mitDNS handelt. Eine Population von ts-Zellen wurde in Glukosemedium bei 36°C gezüchtet, bis etwa 60-80% atmungsdefekte Zellen entstanden waren. Durch Stempelkreuzung (Coen et al., 1970) wurde bestimmt, ob und welche der mitochondrialen Resistenzmarker des Elternstammes in den atmungsdefekten Zellen erhalten geblieben waren. Trug der temperatursensible Elternstamm drei mitochondriale Resistenzmarker, so konnten acht verschiedene Typen atmungsdefekter Kolonien gefunden werden, nämlich Kolonien, die noch alle drei Resistenzmarker, nur noch zwei oder einen Marker in allen möglichen Kombinationen trugen, oder die alle Marker verloren hatten. Aus diesem Ergebnis kann geschlossen werden, daß bei Züchtung der ts-Mutanten bei 36°C der ρ^+ Zustand der mitDNS zerstört wurde, es entstanden ρ^- Mutanten.

In einer Population temperatursensibler Zellen, die bei 36°C gezüchtet werden, treten ρ^- Zellen nicht sofort,

sondern verzögert auf (Fig. 2). Dieser Befund kann durch die Versuchsbedingungen erklärt werden. Zur Bestimmung des prozentualen Anteils der ρ^- Mutanten wurden nach verschiedenen Zeiten aus dem Inkubationsgemisch Zellen sofort auf differentiell Medium plattiert. Dort wachsen reine ρ^- Zellen nur zu Minikolonien heran, während Zellen, die ρ^+ und ρ^- mitDNS Moleküle gleichzeitig enthalten, atmungskompetente Kolonien bilden. Diese Methode erlaubt also nur die quantitative Bestimmung der temperaturabhängigen Bildung von ρ^- Zellen und nicht von ρ^- mitDNS Molekülen. Jede haploide Hefezelle enthält etwa 50 Kopien mitochondrialer Genome (Williamson, 1970), und erst die Segregation der mutierten Moleküle in reine Zelllinien führt zur Bildung reiner ρ^- Zellen. Wird vor dem Plattieren auf differentiell Medium das Zellgemisch 2-3 Generationen bei 23°C zwischenbebrütet, dann vermindert sich die in Fig. 2 beobachtete lag-Phase der ρ^- Bildung oder verschwindet vollkommen. Die Induktionskurve nähert sich einem linearen Verlauf.

Einige temperatursensible Sporenisolate, die aus Kreuzungen von *tsp*-Mutanten mit temperaturresistenten Stämmen gewonnen wurden (z.B. BM1421-3C/*tsp*-25), zeigen bereits bei 23°C erhöhte Instabilität der mitDNS, die möglicherweise auf den Einfluß des neukombinierten Kernhintergrundes zurückzuführen ist.

III. Einfluß der temperatursensiblen atmungsdefekten Mutationen auf den "Output" mitochondrialer Kreuzungen

Die Entstehung der ρ^- Zellen spiegelt nur sehr indirekt die Veränderungen an der mitDNS wider, die durch die temperatursensiblen atmungsdefekten Mutationen bei unerlaubter Temperatur hervorgerufen werden. Sofern diese Veränderungen zum Verlust mitochondrialer genetischer Information führen, sollten sie im Verlust mitochondrialer Marker nachweisbar sein.

Für Ethidium Bromid behandelte Zellen ist gezeigt worden, daß die mutagene Behandlung teilweisen oder völligen Verlust mitochondrialer Information, nachgewiesen am Verlust von Resistenzmarkern, bewirkt (Nagley und Linnane, 1972; Deutsch et al., 1974; Schweyen et al., 1976a).

Die experimentelle Prüfung ist folgendermaßen durchgeführt worden: 1) Die temperatursensiblen Mutanten wurden bei 36°C in Glukosemedium gezüchtet, also unter Bedingungen, die zur Bildung von ρ^- führen. Nach verschiedenen Zeiten des Wachstums wurden Proben entnommen und mit einer Population von ts^+ Zellen gekreuzt.

2) Die Wahl der Kreuzungspartner war derart, daß die gebildeten Zygoten heteroplasmisch waren für zwei oder drei der mitochondrialen Marker C^R/C^S , E^R/E^S , O^R/O^S , P^R/P^S , T^R/T^S (z.B. $ts^-C^R E^R O^R \times ts^+C^S E^S O^S$). Unter den Nachkommen der Zygoten, die nach einigen mitotischen Teilungen homoplasmisch sind (vgl. Dujon und Michaelis,

1974; Gillham 1974) wurde die Häufigkeit der von ts-Eltern in die Kreuzung eingebrachten Allele (z.B. C^R , E^R , O^R) bestimmt. Im Falle eines Verlustes genetischer Information der mitDNS durch Wachstum des ts-Stammes bei 36°C ist zu erwarten, daß die Häufigkeit dieser Allele stark verringert ist (Dujon et al., 1975).

Diese Art der Analyse hat folgende Gründe: Wachsen ts-Mutanten bei 36°C , dann entsteht eine Population von Zellen, die entweder rho^- , rho^- und rho^+ , oder ausschließlich rho^+ mitDNS Moleküle enthalten. Da mitochondriale Marker nur bei atmenden Zellen nachgewiesen werden können, kann die Häufigkeit der Allele des ts-Elter nicht direkt durch Plattieren des haploiden Zellgemischs auf Selektivmedien bestimmt werden. Erst Diploidisierung und Rekombination der rho^- Moleküle mit der rho^+ mitDNS des Testerstammes erlauben diese Analyse.

Der Einfluß der temperatursensiblen Mutationen auf die Stabilität der mitochondrialen DNS wurde in diesen Experimenten an den Nachkommen einer Population von Zygoten analysiert. Veränderungen im Output mitochondrialer Allele, d.h. in der Häufigkeit der Transmission und Rekombination dieser Allele, lassen Rückschlüsse auf einen Einfluß der Mutationen auf den Input mitochondrialer Information zu. Als Input wird die Häufigkeit mitochondrialer Allele eines Elternstammes bezogen auf die Gesamtzahl an mitDNS Molekülen zum Zeitpunkt der Zygotenbildung definiert.

1) Mitochondriale Kreuzungen nach Züchtung der ts-Mutanten bei 23°C

Nach Züchtung der ts-Mutanten bei 23°C ist die Häufigkeit an rho⁻ und demnach die Instabilität der mitDNS gering. Es ist daher zu erwarten, daß Kreuzungen mit diesen Mutanten zu Ergebnissen führen, wie sie von anderen Arbeitsgruppen aus ts⁺ x ts⁺ Kreuzungen bekannt sind (für Literaturzitate vgl. Gillham, 1974). Anhand dieser Ergebnisse sollen im Folgenden die Charakteristika mitochondrialer Kreuzungen aufgezeigt werden.

Nach der Häufigkeit, mit der Parentaltypen und reziproke Rekombinanten auftreten, können zwei Klassen von Kreuzungen unterschieden werden. Verantwortlich für ein unterschiedliches Kreuzungsverhalten verschiedener Stämme ist der mitochondriale Genort ω , der in zwei Allelen, ω^+ und ω^- vorkommt.

a) Homosexuelle Kreuzungen

In homosexuellen Kreuzungen ($\omega^+ \times \omega^+$, $\omega^- \times \omega^-$) treten Elterntypen und reziproke Rekombinanten im Mittel vieler Kreuzungen etwa im Verhältnis 1:1 auf (Tab. 5) (Eine Ausnahme in einer Kreuzungsserie wird später besprochen).

Die Häufigkeit der Transmission mitochondrialer Marker, d.h. die Häufigkeit, mit der die diploiden Segreganten einer Kreuzung ein Elternallel tragen, variiert zwischen 30 und 60%, war aber für die Marker, die auf dem gleichen Eltern genom lokalisiert sind, gleich (Kovarianz der Transmission). Schwankungen dieser Art, die von Wachstums-

bedingungen und genetischen Faktoren abhängen, wurden auch von Bolotin et al. (1971), Avner et al. (1973), Wolf et al. (1973), Dujon et al. (1975) und Schweyen und Kaudewitz (1976) beobachtet.

Die Rekombinanten zwischen ungekoppelten Markern (z.B. C-O, E-O, C-P, O-P) treten mit einer maximalen Häufigkeit von etwa 25% auf.

Die Kombination der mitochondrialen Allele bezogen auf den Paarungstyp und den ω -Genort hatte keinen Einfluß auf die Ergebnisse der homosexuellen Kreuzungen.

Die Ergebnisse der homosexuellen Kreuzungen mit den Stämmen M12, M12/20, M12/25, M12/30 und M12/8 und dem Wildtypstamm SM505-3C entsprechen nicht völlig den üblichen Charakteristika mitochondrialer Kreuzungen (Tab. 6); eine leicht Polarität zugunsten des O^R -Allels konnte beobachtet werden. Die Rekombinanten $C^S E^S O^R$ kommen etwa 2-6 mal so häufig vor wie die reziproken Rekombinanten $C^R E^R O^S$. Da diese leicht Polarität sowohl im Ausgangsstamm M12, als auch in den isogenischen temperatursensiblen Abkömmlingen auftritt, kann sie nicht durch die ts-Mutationen bedingt sein.

Für dieses Phänomen der Polarität in homosexuellen Kreuzungen sind drei Erklärungen möglich:

- Die Rekombinanten $C^S E^S O^R$ wachsen schneller als die reziproken Rekombinanten $C^R E^R O^S$.
- Die Kombination des genetischen Kernhintergrundes in den beiden Stämmen bewirken diese Polarität.

- Ein anderer Polaritätsfaktor als ω kommt in der Kombination der beiden Stämme zur Wirkung.

Die erste Hypothese der unterschiedlichen Wachstumsgeschwindigkeit konnte in dem folgenden Experiment ausgeschlossen werden: Zellen der beiden reziproken Rekombinanten $C^S E^S O^R$ und $C^R E^R O^S$ aus der Kreuzung M12 x SM505-3C wurden im Verhältnis 1:1 gemischt und 10-12 Generationen unter Kreuzungsbedingungen gezüchtet. Dieses Wachstum bewirkte keine signifikante Änderung in der Verteilung der beiden Zelltypen (Tab. 7). Zwischen den beiden anderen Hypothesen konnte nicht entschieden werden.

b) Heterosexuelle Kreuzungen

In heterosexuellen Kreuzungen ($\omega^+ \times \omega^-$) kommen die Zelltypen, die das ω^+ -Allel tragen, mit wesentlich größerer Wahrscheinlichkeit vor, als die des ω^- -Genotyps (Tab. 8).

Es kann eine Minoritäts- und eine Majoritätsklasse der Rekombinanten unterschieden werden (Polarität der Rekombination). Die maximale Häufigkeit der Rekombinanten liegt in den aufgeführten Beispielen zwischen 50% und 60%.

Der Marker, der am nächsten bei ω lokalisiert ist, wird am häufigsten transmittiert (Polarität der Transmission). Die Transmissionshäufigkeit des Allels C^+ liegt im Durchschnitt bei 95%, die von E^+ bei 75%, d.h. das Verhältnis der beiden Allele C^+/C^- und E^+/E^- ist deutlich verschieden von 1. Alle anderen untersuchten Marker verhalten sich bezüglich ihrer Transmission und Rekombination wie alle Marker in homosexuellen Kreuzungen.

Die temperatursensiblen atmungsdefekten Mutationen tsm-8, tsp-20, tsp-25 und tsp-30 bewirken bei 23°C keine Änderung des Outputs mitochondrialer Kreuzungen; die ts-Mutanten verhalten sich wie Wildtypstämme. Dieser Befund ist Voraussetzung für die folgenden Experimente, da nur unter diesen Bedingungen aus Veränderungen des Outputs bei Züchtung der ts-Mutanten bei 36°C Rückschlüsse auf Veränderungen der mitDNS gezogen werden können.

2) Homosexuelle Kreuzungen mit den ts-Mutanten nach Züchtung bei 36°C

Die Ergebnisse der homosexuellen Kreuzungen sind in den Tabellen 10 und 11 aufgeführt. Die Figuren 3 und 4 zeigen die Ergebnisse zweier repräsentativer Kreuzungsreihen mit der mitochondrialen Mutante SM1211-1B/tsm-8 und der karyotischen Mutante M12/25/tsp-25. Die Werte der Kontrollkreuzung, d.h. der Kreuzung, die zum Zeitpunkt Null des Wachstums der Mutanten bei 36°C durchgeführt wurden, sind als 1 gesetzt.

In beiden ts-Stämmen tritt mit zunehmender Wachstumsdauer eine Zunahme des Anteils an ρ^- in der Population bzw. eine Abnahme der Zellen, die atmungskompetente Kolonien bilden, auf. Diese temperaturabhängige ρ^- Bildung wird begleitet von einer Reduzierung der Transmissionshäufigkeit der Marker, die von den ts-Eltern in die Zygoten eingebracht werden (C^a , E^a und O^a bzw. C^a , E^a und T^a).

In der mitochondrialen Mutante (Fig.3) verläuft der Verlust der Transmissionshäufigkeit mit gleicher Rate wie die Abnahme der ρ^+ Kolonien, während bei der karyotischen Mutante (Fig.4) die beiden Häufigkeiten nicht proportional reduziert werden. Dieses Ergebnis wird in Kapitel III 4) ausführlicher besprochen.

Die Häufigkeit der mitochondrialen Rekombinanten (C-E, C-T, E-T und C-E, C-O, E-O) wird in beiden Mutanten durch die ρ^- Bildung schwächer beeinflußt als die Transmission.

In allen homosexuellen Kreuzungen, die mit den vier ts-Mutanten durchgeführt wurden (mit Ausnahme der Kreuzungen mit den Stämmen M12/8, M12/20, M12/25, M12/30 und SM505-3C, vgl. Kapitel III 1) wird Kovarianz der Transmission aller mitochondrialen Allele (C, E, O, P und T) beobachtet, d.h. alle von einem ts-Elternstamm in die Kreuzung eingebrachten Allele zeigen gleiche, von Experiment zu Experiment unterschiedlich stark reduzierte Transmission (Tab. 10 und 11). Ähnliche Ergebnisse beobachteten auch Dujon et al. (1975): Wurde vor der Zygotenbildung ein Elter mit UV-Licht bestrahlt, dann nahm die Transmissionshäufigkeit mitochondrialer Marker, die der bestrahlte Elternstamm trug, gleichmäßig ab.

Der Paarungstyp hat keinen Einfluß auf die Wirkungsweise der temperatursensiblen Mutationen. Werden in einem ts-Stamm vom Paarungstyp a ρ^- induziert, dann nimmt die Transmissionshäufigkeit von C^a , O^a und P^a ab (Tab. 11h), während im Falle eines α ts-Elter die Transmissionshäufig-

keit von C^a , O^a und P^a zunimmt (Tab. 11i). In beiden Fällen vermindert sich die Häufigkeit des Outputs der Allele, die von der entsprechenden ts-Mutante transmittiert wurden.

Um zu prüfen, ob die Wirkung der ts-Mutationen bei 36°C auf der Initiation eines Prozesses beruht, der dann unabhängig von der Temperatur weiterläuft und zur Bildung von ρ^- Zellen führt, oder ob die ρ^- Bildung in allen Schritten von der Temperatur abhängt, d.h. unterbrochen werden kann durch Änderung der Temperatur zurück in den erlaubten Bereich, wurde folgender Versuch durchgeführt: Zellen des Stammes CM1431-2D/tsp-30 wurden 2,3 Generationen in Glukosemedium bei 36°C gezüchtet. Darauf wurde die Suspension geteilt, ein Teil bei 36°C , der andere Teil bei 23°C geschüttelt. Nach verschiedenen Zeiten wurden Zellen mit dem Testerstamm IL166-7A diploidisiert, um die Transmissionshäufigkeit von C^a , O^a und P^a zu bestimmen. Wie aus Tabelle 9 zu ersehen ist, reduziert ein weiteres Wachstum von 7 Generationen bei 23°C die Transmission nicht drastisch (von durchschnittlich 75% auf 60%), während im gleichen Zeitraum bei 36°C die Transmissionshäufigkeit auf etwa 20% abfällt. Die leichte Reduzierung bei 23°C kann möglicherweise auf Katabolitrepression zurückzuführen sein. Goldwaith et al. (1974), Birky (1975) und Böker et al. (1976) beschrieben eine Abnahme der mitDNS Syntheserate, der mitochondrialen Proteinsyntheserate und der Transmission mitochondrialer Marker, wenn Wildtypzellen unter hoher Glukosekonzentration (7-10%) gezüchtet wurden.

Die Häufigkeit der ρ^- Zellen steigt bei Wachstum bei 23°C von 6,3% auf 34,2% an. Dieser Anstieg, der wesentlich geringer ist als bei 36°C (bis 86,6%) kann folgendermaßen erklärt werden: Jede haploide Zelle enthält im Durchschnitt etwa 50 Kopien mitochondrialer Genome (Williamson, 1970). Eine heteroplasmische Zelle (ρ^+ und ρ^- Moleküle) bildet eine gemischte Kolonie, die im Bestimmungstest als ρ^+ erfasst wird. Wachstum dieser heteroplasmischen Zellen bei 23°C führt zur Segregation der ρ^+ und ρ^- Moleküle in verschiedene Zellen und damit zur Erhöhung der Anzahl an ρ^- Kolonien.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch für die temperatursensiblen Sporenisolate CM1431-1A und BM1421-1C gefunden (Tab. 11f,h,i). Daraus kann geschlossen werden, daß die induzierten ρ^- Mutationen irreversibel sind, die Wirkung der karyotischen ts-Mutationen aber durch Rückführung der Zellen zur erlaubten Temperatur gestoppt werden kann. Ob diese Befunde auch auf die mitochondriale Mutante tsm-8 zutreffen, wurde nicht geprüft.

Zusammenfassend kann gesagt werden: Werden Zellen der mitochondrialen ts-Mutante und der karyotischen Mutanten unter Bedingungen gezüchtet, welche die ρ^- Bildung induzieren, so nimmt ihre Befähigung, mitochondriale genetische Marker in homosexuellen Kreuzungen zu transmittieren als Funktion der ρ^- Bildung ab. Die Abnahme der Transmissionshäufigkeit ist verbunden mit einer Abnahme der Rekombinationshäufigkeit.

3) Heterosexuelle Kreuzungen mit den ts-Mutanten nach Züchtung bei 36°C

In einer der zuvor geschilderten Kreuzungsreihen analogen Serie wurde geprüft, welchen Einfluß die Züchtung der ts-Mutanten bei 36°C auf den Output heterosexueller Kreuzungen ($\omega^+ \times \omega^-$) hat, wenn a) der ω^+ - Elter und b) der ω^- - Elter temperatursensibel ist.

a) Werden in ω^+ Mutanten durch die ts-Mutationen ρ^- Zellen induziert und dann mit ω^- Stämmen diploidisiert, so kann unter den Nachkommen der Kreuzungen ein Abfall der Transmissionshäufigkeiten beobachtet werden. Die Figuren 5 und 6 (Daten aus Tab. 12d, 13d) zeigen zwei repräsentative Kreuzungsreihen mit der mitochondrialen Mutante SM1211-1B/tsm-8 und der karyotischen Mutante CM1431-1A/tsp-30. Zunehmende Wachstumsdauer bei 36°C und zunehmender Anteil an ρ^- Zellen bewirken eine Verringerung der Transmissionshäufigkeit, wobei - im Gegensatz zu homosexuellen Kreuzungen - die einzelnen mitochondrialen Marker nicht im gleichen Ausmaß beeinflußt werden. Die Transmission der polaren Marker C und E zeigt einen geringeren Abfall als die der unpolaren Marker O, P und T, wobei das C Allel schwächer beeinflußt wird als E (Tab. 12 und 13).

In der Relation Abfall der Transmissionshäufigkeit des unpolaren Markers O^+ zur Anzahl der induzierten ρ^- Zellen zeigt das Sporenisolat SM1211-1B/tsm-8 (Fig.5) anderes Verhalten als die karyotische Mutante CM1431-1A/tsp-30 (Fig.6), wie bereits in den homosexuellen Kreuzungen

zungen beobachtet werden konnte. Eine genauere Analyse dieses Unterschieds wird in dem folgenden Kapitel besprochen.

Die Wirkung der temperaturabhängigen ρ^- Mutation auf die Häufigkeit der Rekombinanten hängt von den jeweils betrachteten Markern ab.

Ein Effekt auf die Minoritätsklasse der Rekombinanten kann nur sehr schwer analysiert werden, da bereits in den Kontrollkreuzungen deren Anzahl sehr gering ist, und ein möglicher Abfall nicht statistisch gesichert werden kann.

In der Majoritätsklasse kann mit zunehmender Anzahl atmungsdefekter Zellen für die Rekombinanten zwischen einem polaren Marker und irgend einem anderen Allel (C-E, C-O, C-T, C-P, E-O, E-T oder E-P) ein Anstieg bis zu einem bestimmten Maximum, das spezifisch für jedes Markerpaaar ist, beobachtet werden (Tab. 12 und 13). Die Rekombinanten zwischen den unpolaren Markern (O-P, O-T) verhalten sich wie in homosexuellen Kreuzungen, d.h. jegliche Zunahme der ρ^- Häufigkeit bedingt eine Verminderung der Häufigkeit dieser Rekombinanten.

b) Werden im Gegensatz zu dem oben beschriebenen Beispiel in einem ω^- ts-Elter ρ^- induziert, dann steigt die Transmissionshäufigkeit für C^+ , E^+ und O^+ an (Tab. 13a). Da die Transmission von C^+ bereits in der Kontrollkreuzung hoch ist (etwa 97%), wesentlich höher als die von O^+ (etwa 58%), ist nur der Anstieg der Transmissions-

häufigkeit des unpolaren Markers eindeutig zu bestimmen. Die Häufigkeit der Rekombinanten (C-E, C-O und E-O) verringert sich als Funktion der ρ^- Induktion.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Ergebnisse der heterosexuellen Kreuzungen davon abhängen, ob die ρ^- Zellen in einem ω^+ oder ω^- Stamm induziert werden. In beiden Fällen ist eine Verringerung der Transmissionshäufigkeit der Marker zu beobachten, die von den entsprechenden ts-Mutanten in die Kreuzung eingebracht werden. Die Häufigkeit der Rekombinanten steigt im ersten Fall bis zu einem bestimmten Maximum an und geht erst dann gegen Null, während sie im zweiten Fall mit jeglicher Zunahme der ρ^- abfällt.

4) Relation zwischen der temperaturabhängigen ρ^- Induktion und dem Abfall der Transmissionshäufigkeit mitochondrialer Marker

Wie in den Figuren 3,4,5 und 6 gezeigt wurde, zeigen die mitochondriale Mutante SM1211-1B/tsm-8 und die karyotischen Mutanten M12/25/tsp-25 und CM1431-1A/tsp-30 in ihrem Verhältnis der Transmissionshäufigkeit zur Anzahl der gebildeten ρ^- Zellen unterschiedliche Ergebnisse. In Figur 7 sind die Relationen dieser beiden Häufigkeiten, die in homosexuellen Kreuzungen mit verschiedenen Sporenisolaten der karyotischen ts-Mutanten gefunden wurden (Tab. 11), zusammengefaßt. Es ist eindeutig zu erkennen, daß alle tsp-Isolate, unabhängig von ihrem genetischen Kernhintergrund, sich gleich verhalten. Sind

bereits alle Zellen zu ρ^- mutiert, dann kann für die Marker C^a bzw. C^e , die Allele der entsprechenden ts-Stämme, immer noch eine Transmission von etwa 30% bestimmt werden. Das bedeutet, daß unter der Wirkung der karyotischen ts-Mutationen $tsp-20$, $tsp-25$ und $tsp-30$ atmungsdefekte Zellen induziert werden, die noch mitochondriale Information enthalten, welche nach Rekombination mit dem ρ^+ Genom des Testerstammes ausgeprägt werden kann. Die induzierten ρ^- weisen bei weiterem Wachstum in der unerlaubten Temperatur eine hohe Instabilität auf, die zum vollkommenen Verlust der mitochondrialen Information führt. Ob diese Instabilität auf eine Wirkung der ts-Mutationen zurückzuführen ist, d.h. ob diese Mutationen bereits veränderte mitDNS Moleküle nochmals mutieren, oder ob sie unabhängig von den ts-Mutationen ist, wurde nicht untersucht.

Bei der mitochondrialen Mutante SM1211-1B/ $tsm-8$ nimmt die Transmissionshäufigkeit der mitochondrialen Marker mit gleicher Rate ab wie die Fähigkeit der haploiden Zellen, ρ^+ Kolonien zu bilden. Diese Erscheinung kann folgendermaßen zustandekommen: 1) Durch Vermehrung der $tsm-8$ Mutante bei $36^\circ C$ entstehen atmungsdefekte Zellen, die keine mitochondriale Information mehr enthalten (ρ^0). Nur ρ^+ Zellen transmittieren mitochondriale Information in die Zygoten, oder 2) der Anteil an mitDNS Molekülen und damit an mitochondrialer Information wird in allen Zellen mehr oder weniger stark reduziert. ρ^+ und ρ^- Zellen transmittieren mitochondriale Marker; es kommt zu einer zufälligen Parallelität in der Reduktion der beiden Häufig-

keiten. Die bisherigen Ergebnisse (Fig.3,5) erlauben keine Unterscheidung zwischen den beiden Möglichkeiten (vgl. Diskussion).

IV. Vergleich der Kreuzungsanalysen mit einem theoretischen Modell der Segregation und Rekombination mitochondrialer Gene

1) Aussagen des Modells

Dujon et al. (1974) stellten ein Modell der Segregation und Rekombination mitochondrialer Gene auf, das teilweise auf dem Modell der Phagenrekombination von Viscconti und Delbrück (1953) basiert. Es sagt aus, daß die mitDNS Moleküle (etwa 50 Kopien pro haploider Zelle und etwa 100 Kopien pro diploider Zelle) einen panmiktischen Pool bilden, in dem alle Moleküle miteinander paaren und rekombinieren können. Die mitDNS Moleküle durchlaufen im Mittel nicht nur eine, sondern mehrere Paarungsrunden, bevor durch mitotische Segregation reine Zelllinien gebildet werden. Die Zusammensetzung des panmiktischen Pools hängt von den Input-Fraktionen ab, d.h. von den prozentualen Anteilen mitochondrialer Moleküle der beiden Elternstämme. Sie ist im Idealfall 50:50 und kann theoretisch beliebige Werte zwischen 0:100 und 100:0 annehmen. Das Modell besagt, daß durch die Input-Fraktionen die Output-Fraktionen, d.h. die Häufigkeiten von Eltern- und Rekombinanzzellen unter den Nachkommen, bestimmt sind. Demnach können aus dem Output einer Kreuzung

zung Rückschlüsse auf den Input gemacht werden. In homo-sexuellen Kreuzungen ist der Output beliebiger Marker ein direktes Maß für deren Input, während in hetero-sexuellen Kreuzungen nur der Output unpolarer Marker diesen Wert direkt widerspiegelt. Der Output polarer Marker dagegen entspricht nicht direkt dem Input, er ist modifiziert.

Das Modell schließt weiterhin die Vorstellung ein, daß die Rekombinationsereignisse zwischen mitDNS Molekülen nicht reziprok sind. Diese Schlußfolgerung beruht auf den Befunden, daß a) unter den Nachkommen einer Zygote die zwei Typen eines Rekombinantenpaares nicht im Verhältnis 1:1 gefunden wurden, zum Teil einer der Rekombinanten völlig fehlt, und b) in homosexuellen Kreuzungen im Mittel vieler Kreuzungen die zwei Typen eines Rekombinantenpaares zwar im Verhältnis 1:1 auftreten, die Ergebnisse der heterosexuellen Kreuzungen davon aber abweichen.

Die Vorstellung des Mechanismus der nicht reziproken Rekombination beruht auf dem Modell der Genkonversion der molekularen Genetik. Das mitochondriale Allelpaar ω^+/ω^- beeinflusst die Konversion folgendermaßen: Paaren z.B. ein ω^+ und ein ω^- mitDNS Molekül miteinander, dann wird mit einer Wahrscheinlichkeit von 1 die ω^- Region herausgeschnitten und neusynthetisiert, wobei der ω^+ Strang als Matrize dient. Aus dieser Paarung entstehen also immer zwei ω^+ Moleküle. Die Region, und somit auch die Marker, die nahe bei ω liegen, werden mit größerer Wahrscheinlichkeit mitkonvertiert, als weiter entfernte Allele. Erfasst werden von der Genkonversion die Marker

C und E. In homosexuellen Kreuzungen läuft die Konversion in beiden Richtungen mit gleicher Häufigkeit ab. Dies resultiert in etwa gleicher Anzahl der beiden Typen eines Rekombinantenpaares. Damit bietet das Modell eine Erklärungsmöglichkeit für die Polarität der Transmission und Rekombination in heterosexuellen Kreuzungen und das Fehlen der Polarität in homosexuellen Kreuzungen.

Das Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene (Dujon et al., 1974) berücksichtigt folgende variable Größen:

- w: den Input mitochondrialer Genome
- m: die durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden
- und die Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches.

Drei Parameter des genetischen Austausches zwischen zwei mitDNS Molekülen sind zu unterscheiden:

- K'_{ij} : die Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches zwischen unpolaren Markern in heterosexuellen Kreuzungen, und zwischen allen Markern in homosexuellen Kreuzungen.
- s_i : die Wahrscheinlichkeit, mit der in heterosexuellen Kreuzungen ein Marker zusammen mit der Genkonversion $\omega^- \rightarrow \omega^+$ verändert wird (z.B. $C^- \rightarrow C^+$). Dieser Parameter ist 1 für den ω -Genort und 0 für die unpolaren Allele.
- K_{ij} : die Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches eines Markers in der polaren Region in heterosexuellen Kreuzungen, der unabhängig von ω ist.

Anhand der Hypothesen des Modells ist es nun möglich, für jede Anzahl an Paarungsrunden die Häufigkeit jedes Zell-

typs zu errechnen, wenn der Input und die Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches bekannt sind. Nehmen wir als einfaches Beispiel die heterosexuelle Kreuzung $\omega^+C^+ \times \omega^-C^-$ an, die eine zwei-Faktor-Kreuzung darstellt. Drei Molekültypen werden in dem panmiktischen Pool erwartet, die beiden Elterntypen ω^+C^+ und ω^-C^- , sowie die Rekombinante ω^+C^- . Die reziproke Rekombinante ω^-C^+ kommt nicht vor, da bei heterologer Paarung ω^- mit einer Wahrscheinlichkeit von 1 zu ω^+ verändert wird. Die Häufigkeiten der einzelnen Typen sollen mit y_1 (ω^+C^+), y_2 (ω^+C^-) und y_3 (ω^-C^-) bezeichnet werden. Nach 0 Paarungsrunden entspricht y_1 und y_3 dem Input der entsprechenden Moleküle, y_2 ist 0. Innerhalb des Pools können Paarungen zwischen allen Molekülen stattfinden. Paart z.B. ω^+C^+ mit ω^-C^- , so ist die Wahrscheinlichkeit dieser Paarung $2y_1y_3$. Jedes Rekombinationsprodukt dieser Paarung trägt das ω^+ Allel. Stoppt die Genkonversion vor dem C Marker (Wahrscheinlichkeit ist $1-s_1$), dann entstehen die Molekültypen ω^+C^+ und ω^+C^- . Umfaßt die Genkonversion ω und den C Marker (Wahrscheinlichkeit ist s_1), dann entstehen zwei Moleküle ω^+C^+ .

Die Häufigkeit jedes einzelnen Molekültyps in Abhängigkeit von der Anzahl an Paarungsrunden kann folgendermaßen errechnet werden:

$$\frac{dy_1}{dn} = y_1y_3s_1$$

$$\frac{dy_2}{dn} = y_1y_3(1-s_1) + y_2y_3$$

$$\frac{dy_3}{dm} = -y_3 (1-y_3)$$

Die gleichen Überlegungen und Berechnungen für drei- und vier-Faktor-Kreuzungen vergrößern die Anzahl der differentiellen Gleichungen. Diese Gleichungen können auch für die Kalkulationen der homosexuellen Kreuzungen verwendet werden; hierbei ist der Molekültyp, der das ω^- Allel trägt 0 (im erwähnten Beispiel y_3). Die Anzahl der mitochondrialen Faktoren reduziert sich dadurch um eins, aus einer drei-Faktor-Kreuzung wird eine zwei-Faktor-Kreuzung.

Die Auflösung der differentiellen Gleichungen führt zu folgenden Beziehungen:

$$R_i = w \left(\frac{e^m}{1-w+we^m} \right) s_i$$

Diese Gleichung spiegelt das Verhältnis des Outputs (R_i) der polaren Marker zum Input dieser Marker in heterosexuellen Kreuzungen wider (w = Input, m = durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden, s_i = Wahrscheinlichkeit der Genkonversion polarer Marker), und

$$R_{ij} = 2w (1-w)(1-e^{-K_{ij}^! m})$$

Mit dieser Gleichung kann die Häufigkeit der Rekombinanten (R_{ij}) in homosexuellen Kreuzungen in Abhängigkeit von der durchschnittlichen Anzahl an Paarungsrunden (m), des Inputs (w) und der Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches ($K_{ij}^!$) errechnet werden.

Aufgrund der Voraussagen des Modells ist es möglich, unter Annahme variabler Parameter eine Serie theoretischer Kurven zu berechnen. Werden die experimentellen Ergebnisse mit diesen theoretischen Kurven verglichen, dann kann diejenige ermittelt werden, die am besten mit den Versuchsergebnissen übereinstimmt (best fitting). Die dieser theoretischen Kurve zugrundegelegten Parameter können zum Vergleich der Experimente mit anderen Versuchsergebnissen herangezogen werden. Abweichungen liefern möglicherweise Hinweise auf den Vorgang der temperaturabhängigen Induktion atmungsdefekter Zellen.

2) Computeranalyse der experimentellen Ergebnisse und Berechnung der Parameter des Modells.

Die Ergebnisse aller Kreuzungen mit den vier temperatursensiblen atmungsdefekten Mutanten wurden in Zusammenarbeit mit B. Dujon und P.P. Slonimski mit Hilfe von Computeranalysen mit dem Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene (Dujon et al., 1974) verglichen. Die Parameter wurden für jede mögliche Kombination zweier Marker errechnet. Die Kalkulationen wurden für die Ergebnisse der mitochondrialen Mutante tsm-8 getrennt von denen der karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 durchgeführt. Zur Vervollständigung der Berechnungen wurden den bereits beschriebenen Versuchsergebnissen die der Standardkreuzungen mit der mitochondrialen ts-Mutante, die von Schweyen und Kaudewitz (1976) beschrieben wurden, hinzugefügt.

a) Homosexuelle Kreuzungen

In den Figuren 8 und 9 sind die Verhältnisse der Transmissionshäufigkeiten C^a/E^a , C^a/T^a , E^a/T^a aus homosexuellen Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante, und die Relationen C^a/E^a , C^a/O^a , O^a/P^a , C^a/O^a , E^a/O^a aus Kreuzungen mit den karyotischen ts-Mutanten aufgeführt. Jeder Punkt repräsentiert eine einzelne Kreuzung, die durchgezogene Linie stellt die theoretische Kurve dar. Es ist offensichtlich, daß alle experimentellen Ergebnisse, außer denen in Fig. 9d und 9e, sehr gut mit den Voraussagen des Modells für homosexuelle Kreuzungen übereinstimmen. Wird die Transmissionshäufigkeit eines Markers durch den Einfluß der ts-Mutationen verändert, so ändert sich im gleichen Ausmaß die Transmissionshäufigkeit der Marker, die auf dem gleichen Elterngenom lokalisiert sind. Die Kovarianz der Transmission bleibt also erhalten, unabhängig davon, wie stark der Input durch die untersuchten Mutationen verringert wird.

Eine Ausnahme zu diesem Befund bilden die experimentellen Ergebnisse, die in den Figuren 9d und 9e dargestellt sind; es konnte keine lineare Beziehung der Transmissionshäufigkeiten C^a und O^a bzw. E^a und O^a gefunden werden. Die meisten Punkte dieser Figuren stammen aus Kreuzungen, die mit den Stämmen M12, der eine der karyotischen ts-Mutationen trug, und SM505-3C durchgeführt wurden. In diesen Kreuzungen wurde, abweichend von den erwarteten Resultaten homosexueller Kreuzungen, eine leichte Polarität zugunsten des O^R Allels beobachtet (vgl. Kapitel III 1).

Diese Polarität resultiert in einer differentiellen Abnahme der Transmission der Marker, die auf dem gleichen Genom lokalisiert sind. Alle Ergebnisse der homosexuellen Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten, die die mitochondrialen Marker CO und EO einschlossen, wurden deshalb mit den Gleichungen heterosexueller Kreuzungen analysiert. Die Parameter, die für die theoretischen Kurven ermittelt wurden, waren $m = 2,6$; s_C , $s_E = 0,3$ und $K' = 0,16$. Dadurch konnte eine gute Übereinstimmung zwischen den experimentellen Ergebnissen und der theoretischen Kurve erreicht werden.

Für die Häufigkeit der Rekombinanten homosexueller Kreuzungen in Abhängigkeit der Transmission fordert das Modell parabolische Verteilung. Die Höhe des Maximums dieser Parabole hängt vom genetischen Abstand zwischen den zwei betrachteten Markern ab. Die Figuren 10a-c zeigen den Vergleich der experimentellen Ergebnisse aus Kreuzungen

der mitochondrialen Mutante tsm-8 mit den theoretischen Kurven. Für alle Markerkombinationen ist, trotz der Streuung der experimentellen Punkte, eine gute Übereinstimmung zu beobachten. Das Maximum der C-E Rekombinanten liegt bei etwa 8%, das der C-T Rekombinanten bei etwa 12,5% und das der E-T Rekombinanten bei etwa 13%. Diese Werte liegen deutlich unter dem Maximum der Rekombinationshäufigkeit zwischen zwei genetisch ungekoppelten Markern in homosexuellen Kreuzungen (maximale Rekombinationshäufigkeit ist 20-25%); d.h. die drei Marker C, E und T repräsentieren ein Segment der mito-

chondrialen DNS mit drei gekoppelten Markern (vgl. auch Schweyen und Kaudewitz, 1976).

Die Streuung der experimentellen Punkte kann folgendermaßen erklärt werden: In den Figuren sind die Ergebnisse mehrerer Kreuzungsreihen mit verschiedenen ts-Sporenisolaten und verschiedenen Kreuzungspartnern dargestellt. Die Unterschiede im Output dieser Kreuzungen können auf a) statistischen Schwankungen beruhen, da pro Kreuzung oft nur eine kleine Anzahl an Kolonien untersucht werden konnte, und b) durch von Stamm zu Stamm variable Rekombinationswahrscheinlichkeit, die auf Einflüsse des genetischen Kernhintergrundes zurückzuführen ist, bedingt sein. Schwankungen dieser Art wurden auch von Bolotin et al. (1971), Avner et al. (1973), Wolf et al. (1973), Dujon et al. (1975) und Schweyen und Kaudewitz (1976) beschrieben.

Die Figuren 11a-e zeigen die Relationen zwischen verschiedenen Rekombinanten und der Transmissionshäufigkeit eines Markers, die in den homosexuellen Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 bestimmt wurden. Die Häufigkeiten der Rekombinanten C-P und O-P als Funktion der Transmission von P^a (Fig. 11b,c) zeigen parabolische Verteilung und stimmen gut mit den theoretischen Kurven überein, die nach den Forderungen des Modells berechnet wurden. Das Maximum der Häufigkeiten der C-P und O-P Rekombinanten liegt bei 26% bzw. 27%, d.h. C-P und O-P sind in der Rekombinationsanalyse ungekoppelte Marker.

Die experimentellen Ergebnisse der C-E Rekombinanten (Fig. 11a) scheinen keine parabolische Verteilung zu geben und nicht der theoretischen Kurve zu folgen. Diese Abweichung kann folgendermaßen erklärt werden: Die meisten Punkte stammen aus Kreuzungen mit dem Stamm M12, der eine der karyotischen ts-Mutationen trug, während andere Ergebnisse in Kreuzungen mit verschiedenen ts-Sporenisolaten gefunden wurden. In Kreuzungen mit M12 und dessen isogenischen Abkömmlingen wurde eine wesentlich niedrigere Rekombinationshäufigkeit zwischen den Marker C und E beobachtet (3-5%). Dieses Phänomen, das schon von Wolf et al. (1973) und Dujon et al. (1975) beschrieben wurde, scheint ein Charakteristikum dieses Stammes zu sein. In der Computeranalyse wurde nun die theoretische Kurve ermittelt, die am besten zu allen experimentellen Punkten paßt, und nicht diejenige, die am besten zu der größtmöglichen Anzahl an Punkten paßt. Deshalb ist die Abweichung die Punkte in Figur 11a von der theoretischen Kurve groß.

Die Figuren 11d und 11e zeigen die asymmetrische Verteilung der Rekombinanten C-O und E-O aus den homosexuellen Kreuzungen mit den karyotischen ts-Mutanten, die eine leichte Polarität aufweisen (vgl. Kapitel III 1 und Fig. 9d,9e).

In Tabelle 14 sind die Ergebnisse der Computeranalyse aller homosexueller Kreuzungen und die Berechnung der Parameter der theoretischen Kurven für jedes mögliche Markerpaar zusammengefaßt. Wie aus der Auflösung der theoretischen, differentiellen Gleichungen leicht zu er-

sehen ist, kann für homosexuelle Kreuzungen nur der Faktor $m \times K'$ errechnet werden. Für jeden experimentellen Punkt, d.h. für die Ergebnisse jeder Kreuzung wurde mit Hilfe des χ^2 -Testes berechnet, ob er signifikant von der theoretischen Kurve abweicht oder nicht. Die Summe aller χ^2 -Werte und deren Freiheitsgrade, sowie die Anzahl der untersuchten Kreuzungen sind angegeben. Wie aus der Tabelle entnommen werden kann, zeigt das Produkt $m \times K'$ für die ungekoppelten Marker C-O, C-P, O-P und O-T bei der mitochondrialen Mutante tsm-8 einen signifikant niedrigeren Wert (0,50-0,54) als bei den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 (0,72; 0,78). Ob dies durch eine höhere Anzahl an Paarungsrunden (m) oder durch eine größere Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches (K') bedingt wird, kann erst aus den Ergebnissen der heterosexuellen Kreuzungen geschlossen werden.

b) Heterosexuelle Kreuzungen

Das Modell der Segregation und Rekombination mitochondrialer Gene (Dujon et al., 1974) fordert, daß sich die Marker der unpolaren Region P,T und O wie alle Marker in homosexuellen Kreuzungen verhalten, d.h. der Output der drei Marker ist kovariant. Wird die Transmissionshäufigkeit eines Allels durch die ρ^- Bildung reduziert, so ändert sich im gleichen Ausmaß die Transmission aller unpolaren Marker, die auf dem gleichen mitochondrialen Genom lokalisiert sind. Die Figuren 12f und 13c zeigen, daß die experimentellen Ergebnisse sowohl aus Kreuzungen mit

der mitochondrialen ts-Mutante als auch aus Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten diese Forderung erfüllen.

In der polaren Region tritt Polarität der Transmissionshäufigkeit auf, wobei C^+ , der Marker, der am nächsten bei ω liegt, die höchste Transmission aufweist. Durch die temperaturabhängige ρ^- Induktion tritt - ähnlich wie in homosexuellen Kreuzungen - eine Verringerung der Transmissionshäufigkeit auf, wobei aber nicht jeder Marker im gleichen Ausmaß beeinflusst wird (Fig. 12a-e, 13a-b; vgl. Fig. 5,6). Die Kreuzungsergebnisse der mitochondrialen und der karyotischen Mutanten stimmen gut mit den ermittelten theoretischen Kurven überein.

Wie erwartet , ergibt die Darstellung der Rekombinanten zwischen den unpolaren Markern (O-P, O-T, P-T) als Funktion der Transmission wie in homosexuellen Kreuzungen einen Parabol (Fig. 14f, 15c). Die Rekombinanten O-P, O-T und P-T aus Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8 (Fig. 14f) erreichen ein Maximum von etwa 20%, während das Maximum der O-P Rekombinanten aus Kreuzungen mit den karyotischen ts-Mutanten etwa 27% beträgt (Fig. 15c). Diese höhere Rekombinantenhäufigkeit kann durch eine höhere Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches oder durch eine höhere durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden bedingt sein. Tabelle 15 zeigt, daß bei den karyotischen Mutanten mit höherer Wahrscheinlichkeit Rekombinanten auftreten ($K' = 0,30$ gegenüber 0,16). Dieses Verhalten kann durch die karyotischen

ts-Mutationen tsp-20, tsp-25 und tsp-30 bedingt sein.

Die Ergebnisse der Rekombinationshäufigkeiten zwischen einem polaren Marker und irgend einem anderen Marker in Abhängigkeit von der Transmission sind in den Figuren 14a-e (mitochondriale Mutante) und 15a-b (karyotische Mutanten) dargestellt. In allen Fällen kann eine asymmetrische Verteilung der Rekombinanten beobachtet werden. Das Maximum der Rekombinantenhäufigkeiten hängt vom genetischen Abstand der entsprechenden Marker zueinander und zum ϕ -Genort ab. Im Falle der mitochondrialen ts-Mutante erreichen die C-E Rekombinanten ein Maximum von etwa 48%, die C-O und C-T Rekombinanten ein Maximum von etwa 63%, und die E-O, E-T und E-P Rekombinanten eins von etwa 25%. Das Maximum der C-O und C-P Rekombinanten, das aus den Kreuzungen der karyotischen Mutanten errechnet wurde, liegt bei etwa 54%. Dieser Wert ist signifikant niedriger als der aus Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante ermittelte. Tabelle 15 zeigt, daß für diese Markerpaare eine geringere Anzahl Paarungsrunden bestimmt wurde (2,5 gegenüber 3,1).

Tabelle 15 gibt eine Zusammenfassung der Parameter, die aus den heterosexuellen Kreuzungen mit den vier temperatursensiblen atmungsdefekten Mutanten errechnet wurden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die experimentellen Ergebnisse der homosexuellen und heterosexuellen Kreuzungen, die mit der mitochondrialen Mutante tsm-8 und den karyotischen ts-Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 durchgeführt wurden, gut mit dem Modell der Rekombination

und Segregation mitochondrialer Gene (Dujon et al., 1974) übereinstimmen. Ein Unterschied in der Wirkungsweise der beiden Mutationstypen konnte nicht beobachtet werden. Ähnliche Ergebnisse wurden von Dujon et al. (1975) beschrieben, wenn vor der Zygotenbildung ein Kreuzungspartner mit UV-Licht bestrahlt wurde. In Einklang mit der Interpretation Dujons kann die Wirkung der vier ts-Mutationen bei der unerlaubten Temperatur als Verringerung des Inputs mitochondrialer Information des entsprechenden ts-Stammes gedeutet werden. Daß für die hier beschriebenen Experimente eine geringere durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden (2,7 bzw. 2,5) errechnet wurde als von Dujon ($m = 4,6$) kann einen Einfluß der ts-Mutationen auf diesen Parameter widerspiegeln. Es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß eine unterschiedliche Methode, Kreuzungen durchzuführen, diesen Unterschied bewirkt.

c) Positive Koinzidenz, beobachtet in homosexuellen drei-Faktor-Kreuzungen.

Das Phänomen der positiven Koinzidenz in homosexuellen drei-Faktor-Kreuzungen wurde bereits von Kleese et al. (1972), Avner et al. (1973), Wolf et al. (1973), Netter et al. (1974), Dujon et al. (1975) und Schweyen und Kaudewitz (1976) beschrieben. Es sagt aus, daß in einer Kreuzung $X^+Y^+Z^+ \times X^-Y^-Z^-$ die Doppelrekombinante $X^+Y^-Z^+$ häufiger vorkommt, als auf Grund der Häufigkeiten der Einzelrekombinanten $X^+Y^- \times Y^-Z^+$ zu erwarten ist.

Für jede einzelne Kreuzung der Experimentreihen mit den karyotischen Mutanten CM1431-1A/tsp-30 und CM1431-2D/tsp-30 und den rho⁺ Kreuzungspartnern IL216-1A bzw. IL166-7A wurde der Koinzidenzfaktor berechnet, wobei jede mögliche Ordnung der Marker C, O und P (COP, CPO, PCO) in Betracht gezogen wurde. Jede mögliche Genordnung ergab gleiche Werte (Fig. 16). Es ist also nicht möglich über diese Berechnungsmethode eine Reihenfolge der drei Allele auf dem mitochondrialen Genom aufzustellen.

Bei Kenntnis der verschiedenen Parameter einer Serie von Kreuzungen kann die Koinzidenz nach folgender Formel berechnet werden (Dujon et al. 1975):

$$CF = \frac{1}{2w(1-w)} \times \frac{(1-e^{-K_{lj}K_{jk}^m})}{(1-e^{-K_{lj}^m})(1-e^{-K_{jk}^m})}$$

Das Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene fordert, daß der Faktor am kleinsten ist für einen Input $w = 0,50$, und mit steigendem und fallendem Input steigt.

Zwischen der theoretischen Kurve und den experimentellen Ergebnissen konnte eine gute Übereinstimmung beobachtet werden (Fig. 16). Bei der Berechnung des Koinzidenzfaktors für die Markerkombinationen CEO, COP, CPT, COT, EOT, EPT und OPT konnte sowohl für die mitochondriale ts-Mutante als auch für die karyotischen ts-Mutanten bei einem Input von $w = 0,50$ ein Wert von 2-3 ermittelt werden, der vergleichbar ist mit den Kalkulationen

anderer Arbeitsgruppen.

Der Koinzidenzfaktor der Markerkombination CET aus Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante ist signifikant höher als alle anderen bisher kalkulierten Werte. Für einen Input $w = 0,50$ wurde ein Wert von 4,1 ermittelt. Das könnte bedeuten, daß in dem Segment der mitDNS mit den drei gekoppelten Markern C, E und T mit größerer Wahrscheinlichkeit, als in allen anderen Segmenten mit drei Markern, nach einem Rekombinationsereignis ein zweites eintritt.

Es besteht möglicherweise eine Beziehung zwischen dem Abstand der betrachteten Allele und dem Koinzidenzfaktor; je kleiner der Abstand ist, desto größer ist der Koinzidenzfaktor. Um diese Annahme zu prüfen, müßten weitere Rekombinationsanalysen mit drei eng gekoppelten Markern durchgeführt werden. Außer C, E und T sind aber bisher keine weiteren, eng gekoppelten mitochondrialen Marker bekannt, die für derartige Untersuchungen brauchbar sind.

DISKUSSION

Ausgangspunkt dieser Untersuchungen war die Frage nach dem Vorgang der ρ^- Mutation bei Saccharomyces cerevisiae. Durch eine große Zahl von Arbeiten war gezeigt worden, daß die mitDNS von ρ^- Zellen, die nach Ethidium Bromid Behandlung isoliert worden waren, Makrodeletionen und Reiterierung nicht deletierter Sequenzen aufweisen (vgl. Gillham, 1974). Damit war der Endzustand der ρ^- mitDNS charakterisiert, der sich viele Generationen nach dem Zeitpunkt des mutagenen Einflusses von Ethidium Bromid etabliert.

In der vorliegenden Arbeit wurde nun versucht, den Vorgang der ρ^- Bildung in Zellpopulationen anhand der folgenden drei Parameter zu beschreiben: 1) Kinetik der Bildung von ρ^- Zellen. 2) Häufigkeit der Transmission mitochondrialer Information in Zygoten und ihre diploiden Nachkommen. Durch diese Untersuchungen wird quantitativ die in ρ^- verbleibende, vererbbaare genetische Information erfaßt. 3) Rekombination der einer ρ^- Induktion ausgesetzten mitDNS mit ρ^+ mitDNS. Diese Analyse zeigt qualitative Veränderungen der mitDNS an.

Die hier zum ersten Mal für solche Studien verwendeten konditionellen Mutanten erwiesen sich als hervorragend geeignet: a) die Rate der ρ^- Bildung ist hoch, b) die Induktion der ρ^- Bildung kann zu jedem Zeitpunkt unterbrochen werden, c) die ρ^- Bildung hat keinen Einfluß

auf die Keimungs- und Paarungsfähigkeit der Zellen. UV-Licht und Ethidium Bromid erfüllen zwar ebenfalls Bedingung a), UV reduziert jedoch drastisch die Keimungs- und Paarungsfähigkeit (Dujon et al., 1975), während die Induktion der ρ^- Bildung durch Ethidium Bromid wegen der Bildung eines Komplexes EB/mitDNS nicht völlig wieder aufgehoben werden kann (Nagley und Linnane, 1972; Deutsch et al., 1974; Schweyen et al., 1976a).

1) Kinetik der ρ^- Bildung

Unabhängig von der Lage des Mutationsortes im Zellkern oder auf der mitDNS zeigen alle vier untersuchten Mutanten tsm-8, tsp-20, tsp-25 und tsp-30 vergleichbare Kinetik der ρ^- Bildung. Bei Züchtung der Mutanten bei 36°C entstehen innerhalb von 7-10 Generationen mehr als 90% ρ^- Zellen (Fig. 2-6). Die ρ^- Bildung in den Populationen der untersuchten ts-Zellen ist, abgesehen von einer leichten lag-Phase zu Beginn des Wachstums bei 36°C, ein mit der Vermehrung kontinuierlich fortschreitender Prozess. Die lag-Phase dürfte damit zu erklären sein, daß zunächst heteroplasmische Zellen (ρ^+/ρ^-) gebildet werden, die im Experiment als ρ^+ erfaßt werden, homoplasmische ρ^- Zellen dagegen erst nach einem länger währenden Mutationsprozess oder nach Segregation heteroplasmischer Zellen auftreten.

2) Häufigkeit der Transmission mitochondrialer Marker

Zunehmender Anteil an ρ^- Zellen in einer Mutantenpopulation wird begleitet von einem kontinuierlichen Verlust mitochondrialer Information. Alle untersuchten mitochondrialen Marker zeigen die gleiche, kovariante Abnahme der Transmissionshäufigkeit. Dies trifft auch für den Marker T (Mutation tsm-8 in der mitDNS) zu. Demnach ist die Vorstellung widerlegt, daß durch die Mutation tsm-8 eine Instabilität in der Nucleotidsequenz der mitDNS eingeführt sei, die Anlaß gebe zu einer, von diesem Mutationsort ausgehenden Deletierung der mitDNS-Sequenzen. Es ist vielmehr anzunehmen, daß - wie im Falle der karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 - ein verändertes Genprodukt Anlaß zur Deletierung gibt.

Die Abnahme der Transmission ist in der Regel sehr viel geringer als die Abnahme an ρ^+ Zellen in einer Population (Fig. 4,6,7). Dies zeigt an, daß neben den ρ^+ Zellen auch die ρ^- Zellen einen beträchtlichen Anteil zu der Gesamttransmission dieser Populationen beitragen. Daraus ist zu schließen, daß a) die mitDNS-Synthese in den ts-Zellen bei 36°C nicht temperatursensibel ist, was mittlerweile durch direkte Bestimmung von I. Doxiadis (persönliche Mitteilung) bestätigt wurde, und b) in den bei 36°C entstehenden ρ^- mit großer Häufigkeit Teile der mitochondrialen genetischen Information erhalten bleiben. Letzteres ist an ρ^- Klonen der Mutante tsp-25 ausführlich untersucht und belegt worden (Schweyen,

Backhaus, Mathews, Kaudewitz, 1976b; Schweyen, Weiss-Brummer, Backhaus, Kaudewitz, 1976c).

Nur einer der untersuchten Stämme, SM1211-1B/tsm-8, zeigt eine gleiche Rate der Abnahme von ρ^+ Zellen und der Transmissionshäufigkeit. Es bieten sich folgende zwei Erklärungsmöglichkeiten an: a) Die gebildeten ρ^- sind frei von mitochondrialer genetischer Information (ρ^0), nur die verbliebenen ρ^+ Zellen transmittieren genetische Marker in die Zygoten. b) Es entstehen keine ρ^0 Zellen, ρ^+ und ρ^- behalten einen mehr oder weniger reduzierten Anteil der genetischen Information zurück. (Diese Frage wird im folgenden Absatz nochmals aufgegriffen).

3) Rekombinationsanalyse

Dujon et al. (1974) beschreiben ein Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene, das Voraussagen über die Beziehung Rekombinantenhäufigkeit / Transmission zuläßt. Das Modell beinhaltet drei variable Parameter, nämlich den Input mitochondrialer Information, die durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden und die Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches.

Die Ergebnisse vieler Kreuzungen, einschließlich derer, die aus Kreuzungen nach ρ^- Induktion durch UV-Bestrahlung gewonnen wurden (Dujon et al., 1975), zeigen gute Übereinstimmung mit dem Modell. Das läßt den Schluß zu, daß mit hoher Wahrscheinlichkeit die Voraussagen des Modells die Rekombination und Segregation mitochondrialer

Gene quantitativ beschreiben.

Die Ergebnisse der hier beschriebenen Experimente mit den vier ts-Mutanten, bei denen - im Gegensatz zu den von Dujon et al. (1975) durchgeführten Experimenten - die Transmissionshäufigkeit beliebig variiert werden kann (von 0-100%), zeigen ebenfalls gute Übereinstimmung mit dem Modell (Fig. 8-15), ein Befund, der die Relevanz der theoretischen Voraussagen bestätigt. Abweichungen der experimentellen Punkte von den theoretischen Kurven sind nur quantitativer Art; sie können darauf zurückgeführt werden, daß a) die Zahl der pro Kreuzung untersuchten Kolonien häufig klein war, und b) Ergebnisse von Kreuzungen mit verschiedenen Sporenisolaten zusammengefaßt wurden, bei denen die Parameter m und/oder K' (m = durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden, K' = Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches) nicht völlig gleichbleibend waren.

Die Übereinstimmung zwischen Modell und Experiment erlaubt es, eine Aussage über den Anteil an ρ^0 Zellen in den Populationen zu machen: Wird angenommen, daß durch Wachstum der ts-Mutanten bei 36°C nur ρ^0 Zellen gebildet werden, dann sollte sich in der Population das Verhältnis der $\rho^+:\rho^0$ Zellen kontinuierlich von 100:0 bis 0:100 verschieben. Wird diese Population zu verschiedenen Zeiten mit der gleichen ρ^+ Population gekreuzt und die Rekombinationshäufigkeit bestimmt, dann wird eine lineare Abnahme der Rekombinanten vom Maximum bis 0 erwartet. In Figur 17 ist ein Vergleich der erwarteten

und der gefundenen Kurven aus heterosexuellen Kreuzungen dargestellt. Die Befunde lassen darauf schliessen, daß die Zahl der Zygoten, in die nur von einem Elter mitochondriale Information transmittiert wurde, gering war. Alle Zellen (ρ^+ und ρ^-) steuern vielmehr genetische Information bei, die in die Zygoten transmittiert wird und an der Rekombination teilnimmt. Die weiter oben diskutierten Unterschiede in der Relation Transmission zu ρ^- verschiedener Sporenisolate (Fig. 3-6) können damit nur auf einem graduell unterschiedlich starken Teilverlust mitochondrialer Information beruhen.

Aussagen zum Vorgang der ρ^- Bildung in ts-Mutanten

Die Bildung von ρ^- Zellen in den ts-Mutanten kann zusammenfassend folgendermaßen charakterisiert werden:

- a) Die Wirkung der ts-Mutationen bei der unerlaubten Temperatur beruht auf einer Verringerung des Inputs mitochondrialer Information. Der Input muß, ausgedrückt als Zahl der mitDNS Moleküle pro Zelle, sehr viel größer sein als 1. Eine Inputverringerung würde andernfalls sehr rasch zur Bildung von ρ^0 Zellen führen, deren Anteil in den untersuchten Populationen nachweislich sehr gering ist.
- b) Der Input wird kontinuierlich in allen Zellen reduziert. Das bewirkt zunächst eine rasche Bildung heteroplasmischer Zellen (ρ^+/ρ^- ; vgl. lag-Phase in der Bildung von ρ^- Zellen; Fig.2). Durch fortschreitende Deletierung der ρ^+ DNS und/oder durch Segregation von ρ^+ und ρ^- mitDNS entstehen reine, homoplasmische ρ^- Zellen.

c) Hatte innerhalb von 7-10 Generationen der Anteil an ρ^+ auf weniger als 5% abgenommen, so wurde die Transmissionshäufigkeit nur von 40-60% auf 10-30% verringert. Dieses Ergebnis setzt voraus, wie bereits festgestellt, daß mitDNS-Synthese während der ρ^- Bildung fortschreitet.

d) Werden die Populationen über 10 Generationen hinaus bei 36°C inkubiert, dann fällt die Transmissionshäufigkeit weiter bis 0% ab.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß hinsichtlich Segregation und Rekombination mitochondrialer DNS während der ρ^- Bildung durch temperatursensible Mutationen kein Unterschied in der Wirkungsweise der mitochondrialen Mutation tsm-8 und der karyotischen Mutationen tsp-20, tsp-25 und tsp-30 beobachtet werden konnte. Auch mit den Mutagenen Ethidium Bromid und UV-Licht wurden ähnliche Ergebnisse erzielt (Deutsch et al., 1974; Dujon et al., 1975). Ob in allen Systemen der Mechanismus der ρ^- Bildung gleich ist, oder ob es mehrere Mechanismen gibt, die insoweit ähnlich sind, als sie gleiche qualitative und quantitative Veränderungen der mitochondrialen genetischen Information bewirken, ist nicht geklärt.

Rho⁻ Klone und Deletionskartierung

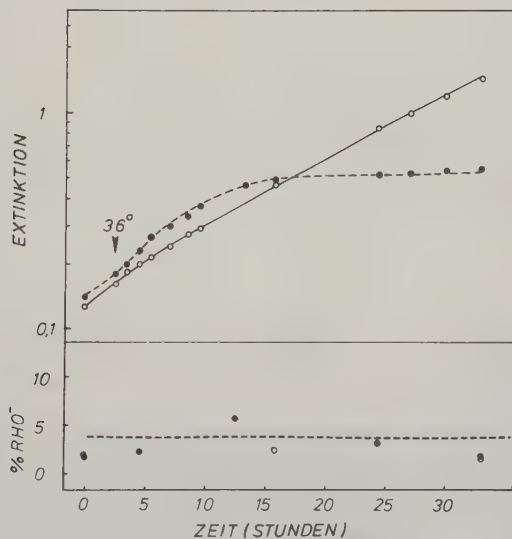
Die Ergebnisse dieser Arbeit waren Voraussetzung für die Untersuchungen an individuellen ρ^- Klonen, die aus Populationen der Mutante tsp-25 nach Wachstum bei 36°C isoliert worden sind. In ihren wesentlichen Aussagen sind deren Ergebnisse in Einklang mit den in dieser

Arbeit beschriebenen Befunden (Schweyen et al., 1976b,c):

a) Der Verlust mitochondrialer Marker durch die ρ^- Mutation ist gering; 90% der ρ^- Klone (isoliert nach 5-8 Generationen bei 36°C) transmittieren mitochondriale Information. b) Gemeinsames Zurückbehalten von zwei oder mehr Allelen ist häufig (bis 80% der ρ^- Klone). Das bedeutet, daß in den ρ^- Zellen lange mitDNS Sequenzen erhalten bleiben. c) Die Summe der mitDNS Sequenzen der ρ^- Klone in einer Population repräsentieren das gesamte mitochondriale Genom. d) Die Stabilität der ρ^- Klone ist bei 23°C hoch. Wachstum über 20 Generationen oder mehr bewirkt keine signifikante Reduzierung der Transmissionshäufigkeit. Vermehrung der ρ^- Zellen bei 36°C dagegen führt zum kontinuierlichen und völligen Verlust mitochondrialer Information innerhalb von 5-10 Generationen (Weiss-Brummer, Diplomarbeit).

Diese durch die ts-Mutationen induzierten ρ^- Klone sind besonders geeignet, Deletionskartierung durchzuführen. Sie beruht auf der Annahme, daß zwei benachbarte Marker, die auf dem Genom dicht beieinander liegen, in den ρ^- Zellen häufiger gemeinsam erhalten bleiben, als zwei weit voneinander entfernte Allele. Mit diesem Kartierungssystem ist es Schweyen et al. (1976b,c) gelungen, eine Reihe mitochondrialer Allele auf einem ringförmigen Genom zu lokalisieren und die relativen Abstände zwischen diesen Markern zu bestimmen.

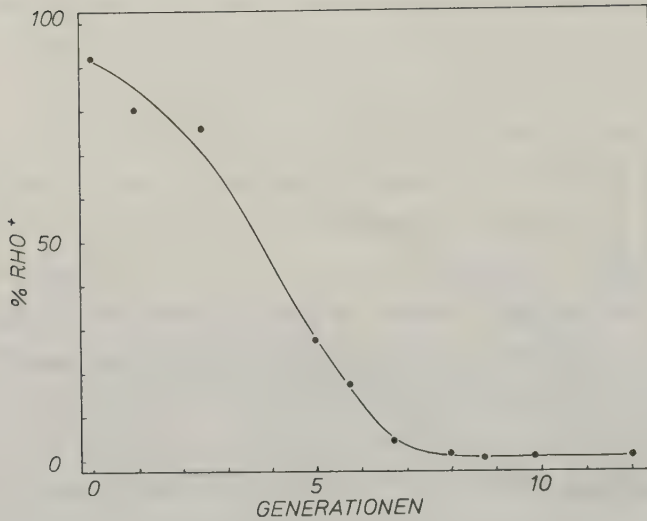
FIGUREN UND TABELLEN



Figur 1

Wachstumskurven der Mutante BM1421-3C/tsp-25 in Glycerin-medium.

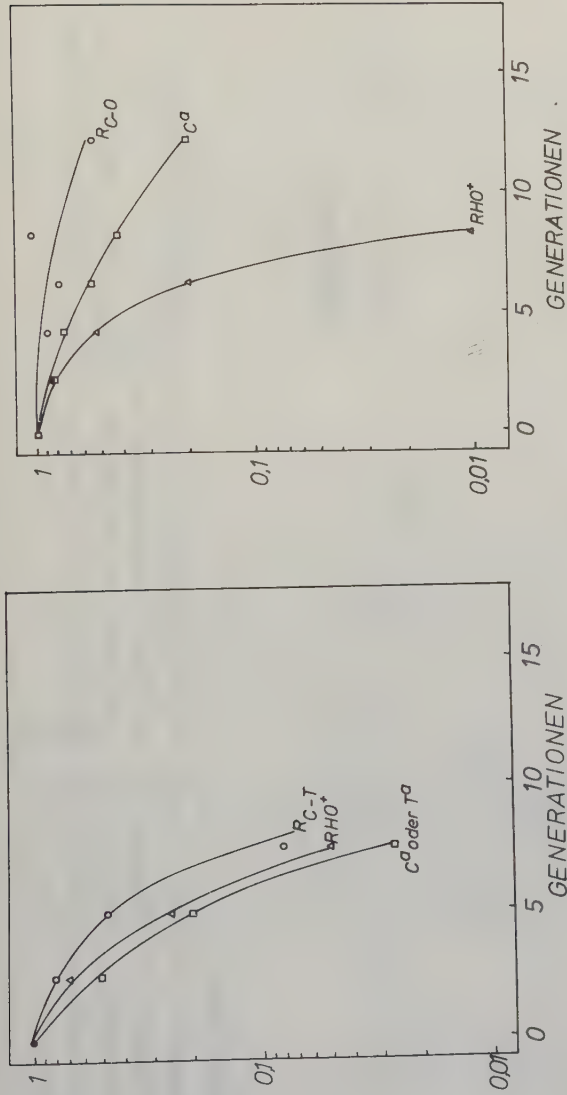
Zellen der Mutante BM1421-3C wurden in YPG-Medium bei 23°C (—) und bei 36°C (---) gezüchtet. Nach verschiedenen Zeiten wurden Wachstum der Zellen durch Messung der optischen Dichte, sowie der Anteil an rho⁻ Zellen durch Plattieren auf differentielles Medium (YPGD) ermittelt.



Figur 2

Induktion von ρ^- Zellen bei der unerlaubten Temperatur.

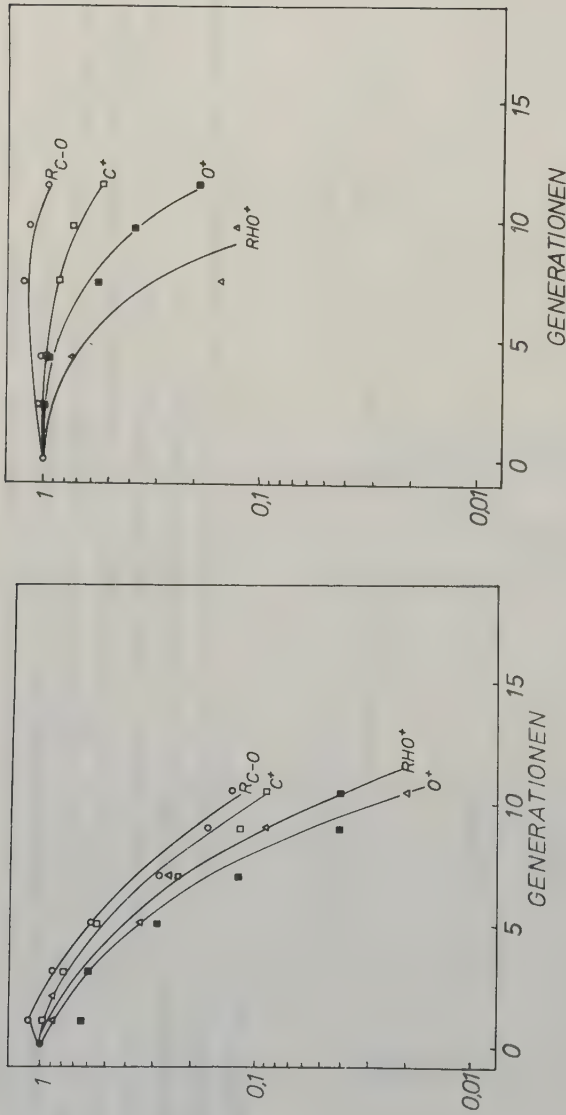
Zellen des Stammes M12/20/tsp-20 wurden in Glukose-medium (YPD) bei 36°C gezüchtet. Nach verschiedenen Zeiten des Wachstums wurde durch Plattieren auf differentiellles Medium der Anteil an ρ^- Zellen ermittelt. Die Anzahl an Zellgenerationen wurde durch Messung der optischen Dichte bestimmt.



Figuren 3 und 4

Abhängigkeit des Anteils an ρ^- Zellen und der Häufigkeit der Transmission und Rekombination in homosexuellen Kreuzungen von der Dauer des Wachstums bei 36°C .

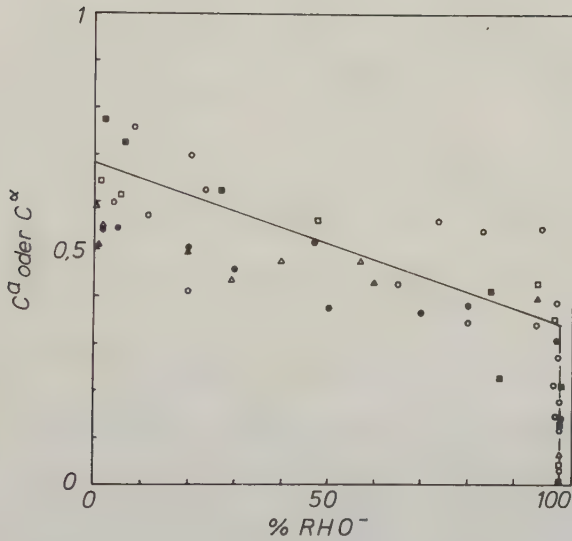
Zellen der mitochondrialen Mutante SM1211-1B/tsm-8 (Fig. 3) und der karyotischen Mutante M12/25/tsp-25 (Fig. 4) wurden bei 36°C in YPD-Medium gezüchtet. Nach verschiedenen Zeiten wurde der Anteil an ρ^- und die Transmission und Rekombination der entsprechenden mitochondrialen Marker durch Kreuzung mit den Stämmen IL166-7A bzw. SM505-3C bestimmt. Die Werte der Kontrollkreuzung (0 Generationen bei 36°C) wurden als 1 gesetzt.



Figuren 5 und 6

Abhängigkeit der ρ^- Bildung und der Häufigkeit der Transmission und Rekombination in heterosexuellen Kreuzungen von der Dauer des Wachstums bei $36^\circ C$.

Versuchsablauf wie in Fig. 3,4, nur wurde die mitochondriale Mutante SM1211-1B/tsm-8 und die karyotische Mutante CM1431-1A/tsp-30 mit dem ρ^+ Stamm SM302-2C bzw. IL102-5C gekreuzt.



Figur 7

Transmissionshäufigkeit des mitochondrialen Markers C^a bzw. C^α , dem Allel des entsprechenden ts-Stammes, aus homosexuellen Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten $tsp-20$, $tsp-25$ und $tsp-30$ als Funktion der bei $36^\circ C$ induzierten ρ^- Zellen. Zeichenerklärung wie in Fig.9.

Figuren 8 und 9

Relation zwischen der Transmissionshäufigkeit eines mitochondrialen Allels und der Transmissionshäufigkeit eines anderen Allels in homosexuellen Kreuzungen. In allen Figuren sind die experimentellen Ergebnisse mit dem theoretischen Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene (Dujon et al., 1974) verglichen worden.

1) Experimentelle Ergebnisse:

Jeder Punkt repräsentiert die Ergebnisse einer einzelnen Kreuzung.

Fig. 8a-c: homosexuelle Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8 (Tab. 10a-c).

○, △, ●, ▲, □, ■ SM1211-1B/tsm-8 x IL166-7A; ◇ Standard-Kreuzungen aus Schweyen und Kaudewitz (1976)

Fig. 9a-e: homosexuelle Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 (Tab. 11a-i).

○ M12/20/tsp-20 x SM505-3C; ● M12/25/tsp-25 x SM505-3C; △ BM1421-1C/tsp-25 x IL216-1A; ▲ M12/30/tsp-30 x SM505-3C; ■ CM1431-2D/tsp-30 x IL166-7A; □ CM1431-1A/tsp30 x IL216-1A; ▢ M12/20/tsp-20 oder M12/25/tsp25 oder M12/30/tsp-30 x SM701-1A.

2) Theoretische Kurven:

Die theoretischen Kurven sind gemäß den Forderungen des Modells gezeichnet, das aussagt, daß der Input mitochondrialer Allele für alle Marker, die auf dem gleichen Genom lokalisiert sind, gleich ist, und daß in homosexuellen Kreuzungen der Input dem Output entspricht. Zu Figur 9d und 9e vergleiche Text.

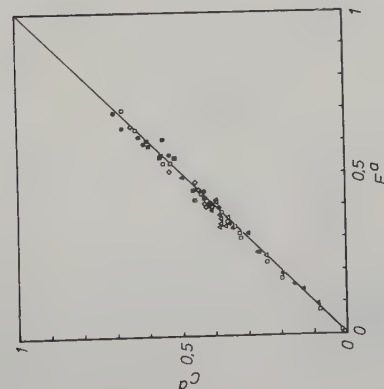
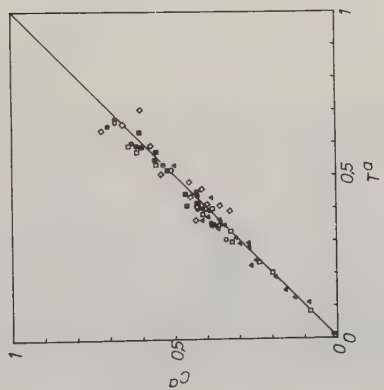
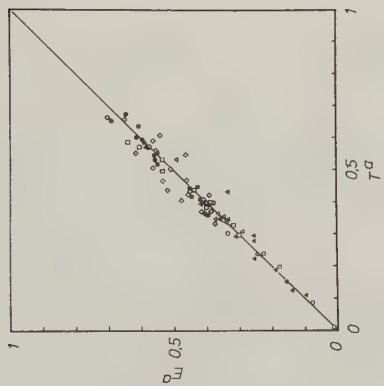


Figure 8a-c

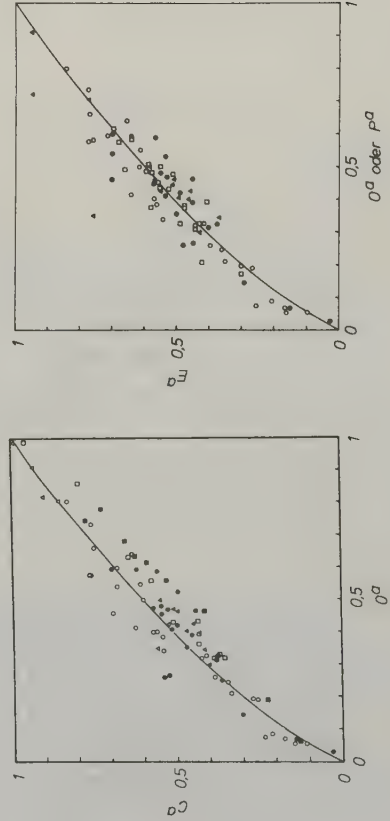
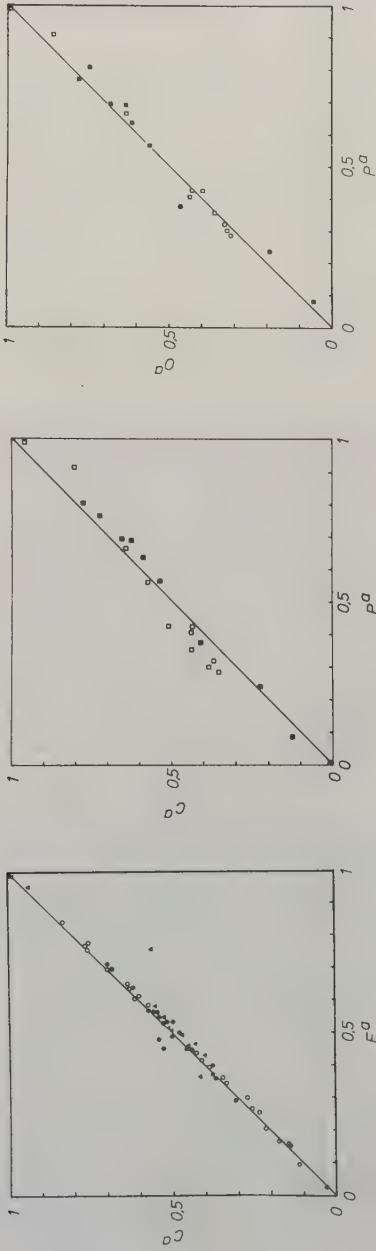


Figure 9a-e

Figuren 10 und 11

Relation zwischen der Häufigkeit der Rekombinanten zwischen zwei mitochondrialen Markern und der Transmission eines Allels in homosexuellen Kreuzungen.

In allen Figuren wurden die experimentellen Ergebnisse mit dem theoretischen Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene verglichen.

1) Experimentelle Ergebnisse:

Jeder Punkt repräsentiert eine einzelne Kreuzung. Die Häufigkeit der Rekombinanten ist die Summe beider reziproker Rekombinanten zwischen zwei Allelen.

Fig. 10a-c: homosexuelle Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8 (Tab. 10a-c). Symbole wie in Fig. 8.

Fig. 11a-e: homosexuelle Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 (Tab. 11a-i). Symbole wie in Fig. 9.

2) Theoretische Kurven:

Die theoretischen Kurven sind gemäß den Forderungen des Modells gezeichnet worden. In homosexuellen Kreuzungen steht die Häufigkeit der Rekombinanten mit dem Input nach folgender Gleichung in Beziehung:

$$R_{ij} = 2w (1-w)(1-e^{-K'_{ij}m})$$

(R_{ij} = Summe der Rekombinanten zwischen i und j,

w = Input, K'_{ij} = Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches, m = Durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden).

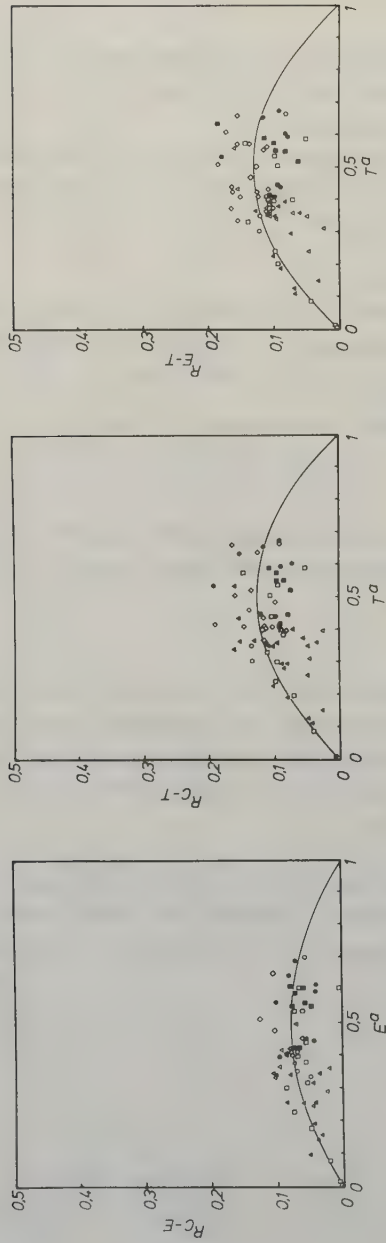


Figure 10a-c

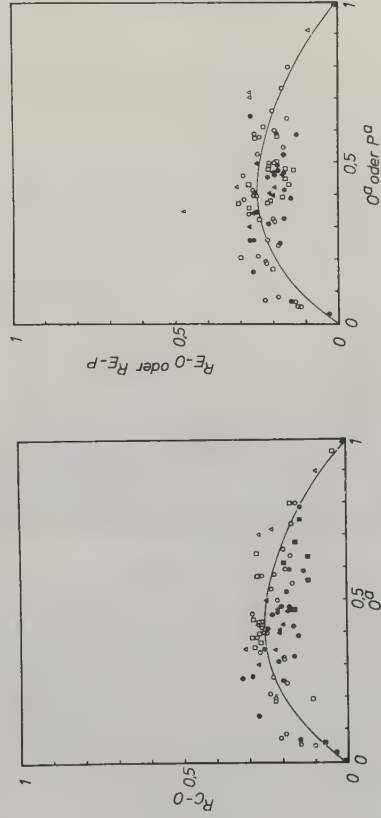
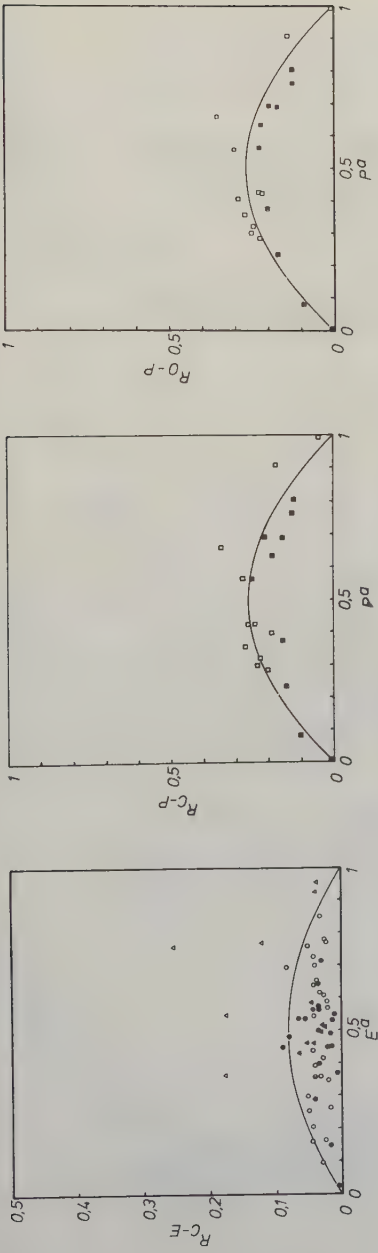


Figure 11a-e

Figuren 12 und 13

Transmissionshäufigkeit eines mitochondrialen Allels als Funktion der Transmission eines anderen Allels in heterosexuellen Kreuzungen.

In allen Figuren wurden die experimentellen Ergebnisse mit dem theoretischen Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene verglichen.

1) Experimentelle Ergebnisse:

Jeder Punkt repräsentiert die Ergebnisse einer einzelnen Kreuzung.

Fig. 12a-f: heterosexuelle Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8 (Tab. 12a-d).

○, ● SM1050-1B/tsm-8 x SM11-2D; ◆ SM1050-1B/tsm-8 x IL16-12C; ▲, △, □, ■ SM1211-1B/tsm-8 x SM302-2C;
◆ Standardkreuzungen aus Schweyen und Kaudewitz (1976).

Fig. 13a-c: heterosexuelle Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 (Tab. 13a-g).

○ AM1311-2D/tsp-20 x IL166-6C; ▲ BM1421-1C/tsp-25 x 55R5-3C; ▲ BM1421-3C/tsp25 x IL125-10C; ● CM1431-2D/tsp-30 x IL102-5C; □ CM1431-1A/tsp-30 x IL125-3A;
■ CM1431-2D/tsp-30 x IL125-10C.

2) Theoretische Kurven:

Die theoretischen Kurven wurden gemäß den Forderungen des Modells gezeichnet, die aussagen, daß in heterosexuellen Kreuzungen der Output der unpolaren Marker dem Input entspricht, während der Output der polaren Marker nach folgender Formel mit dem Input in Beziehung steht:

$$R_i = w \left(\frac{e^m}{1 - w + we^m} \right)^{s_i}$$

(R_i = Output eines mitochondrialen Allels, w = Input, m = durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden, s_i = Wahrscheinlichkeit der Genkonversion polarer Marker).

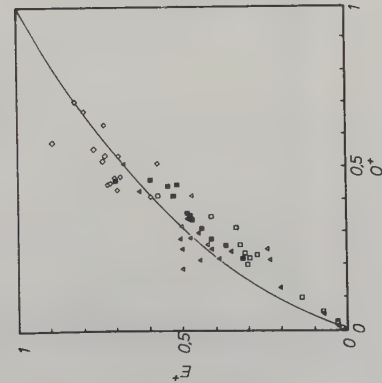
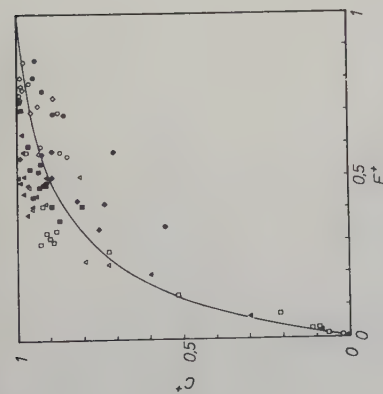
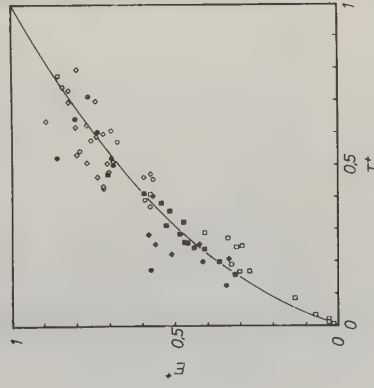
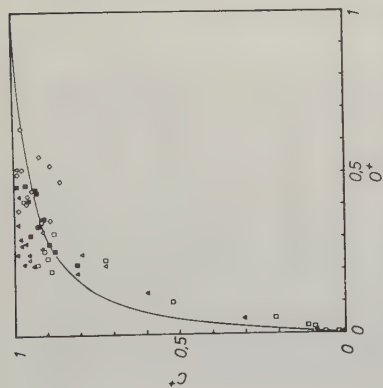
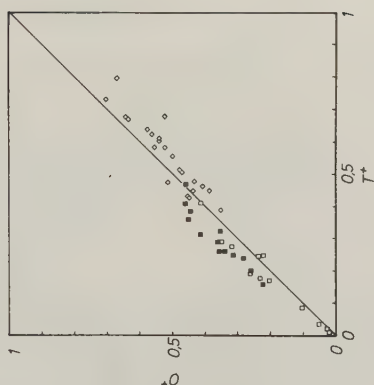
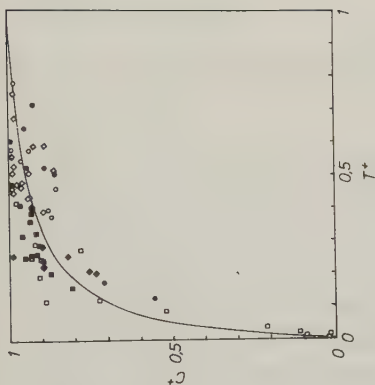


Figure 12a-f

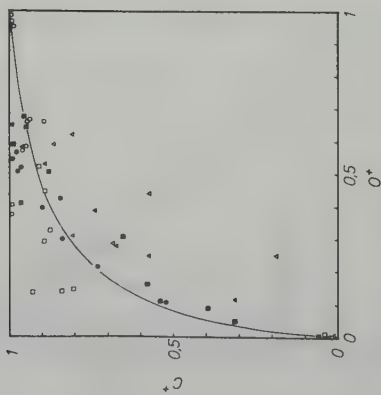
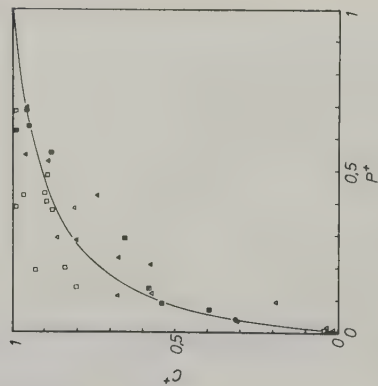
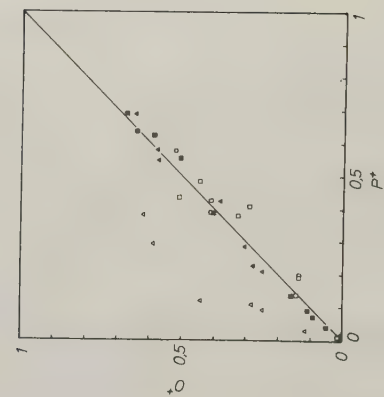


Figure 13a-c

Figuren 14 und 15

Häufigkeiten der Rekombinanten als Funktion der Transmission mitochondrialer Marker in heterosexuellen Kreuzungen.

In allen Figuren sind die experimentellen Ergebnisse mit dem theoretischen Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene verglichen worden.

1) Experimentelle Ergebnisse:

Jeder Punkt repräsentiert eine einzelne Kreuzung.

Die Häufigkeit der Rekombinanten ist die Summe der beiden reziproken Rekombinanten zwischen zwei Markern.

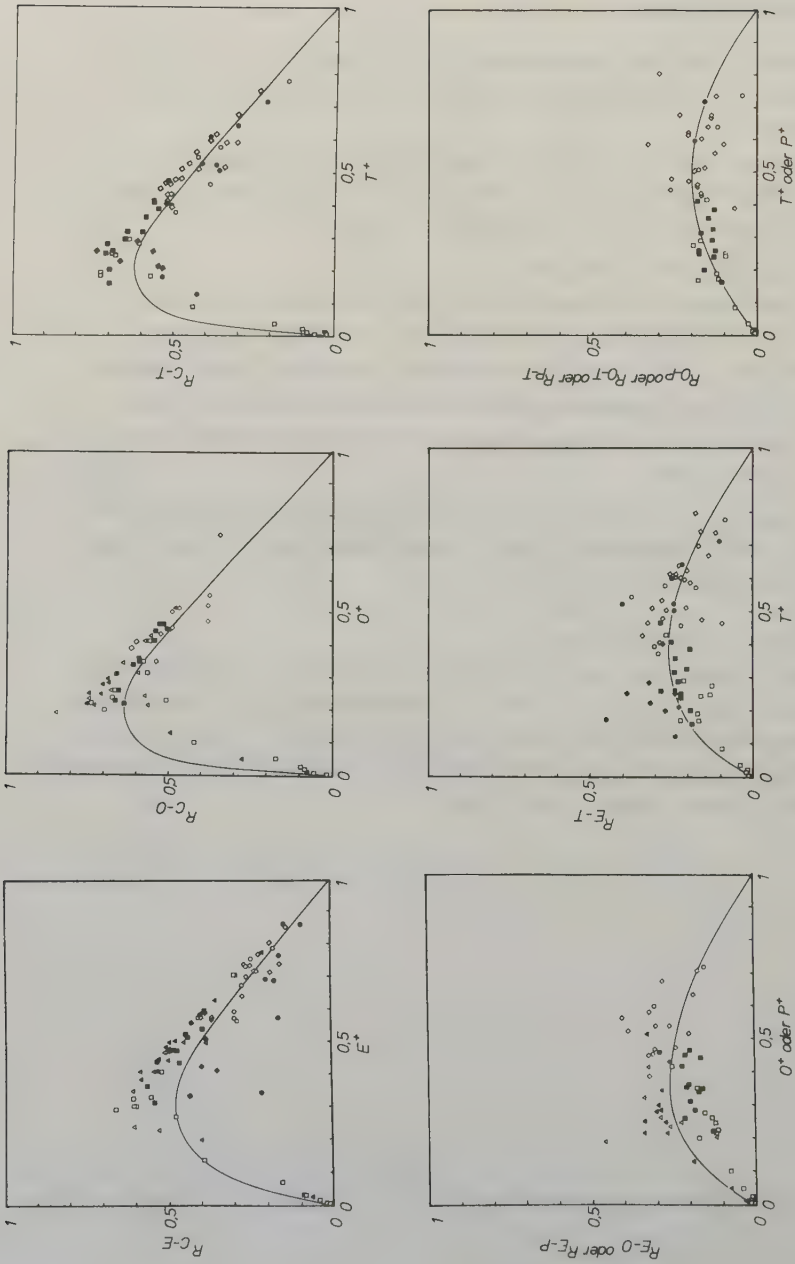
Fig. 14a-f: heterosexuelle Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8 (Tab. 12a-d). Symbole wie in Fig. 12.

Fig. 15a-c: heterosexuelle Kreuzungen mit den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30 (Tab. 13a-g). Symbole wie in Fig. 13.

2) Theoretische Kurven:

Die theoretischen Kurven wurden gemäß den Forderungen des Modells gezeichnet. In heterosexuellen Kreuzungen kann die Häufigkeit der Rekombinanten als Funktion des Inputs durch eine Serie von differentiellen Gleichungen berechnet werden (vgl. Text).

Figuren 14a-f



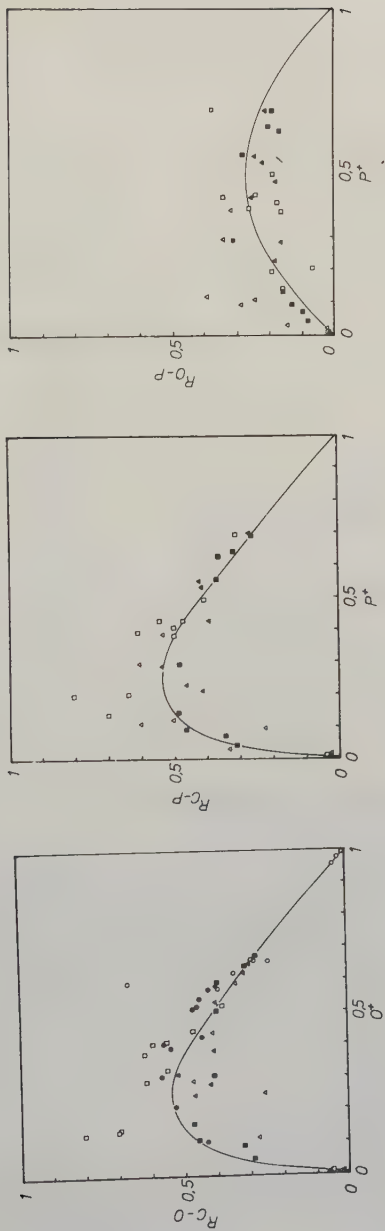
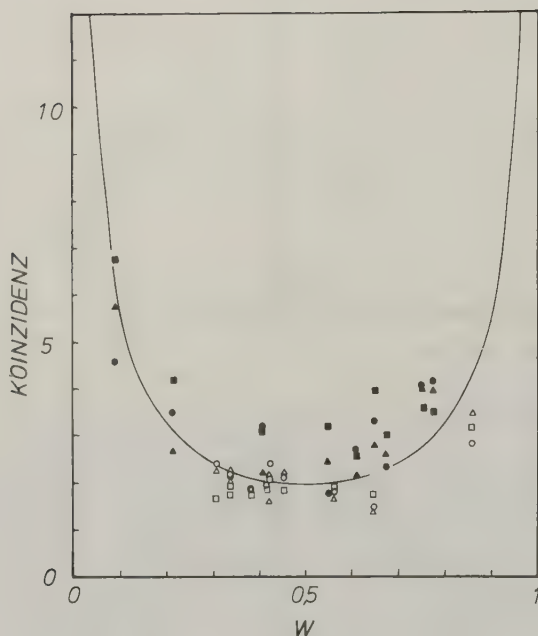


Figure 15a-c



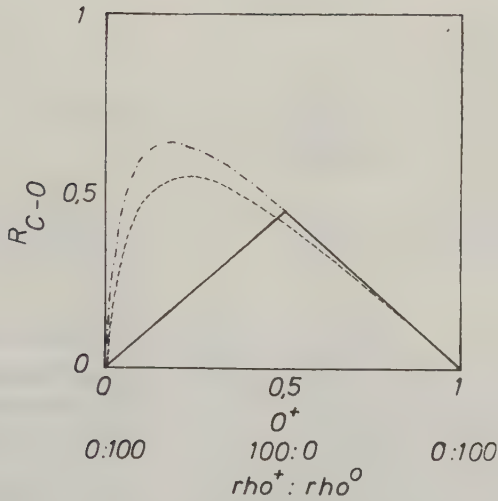
Figur 16

Koinzidenz in homosexuellen drei-Faktor-Kreuzungen als Funktion des Inputs (w).

Aus Ergebnissen der homosexuellen Kreuzungsreihen mit den Stämmen CM1431-1A/tsp-30 x IL216-1A (offene Symbole) und CM1431-2D/tsp-30 x IL166-7A (geschlossene Symbole) wurde der Koinzidenzfaktor für die Reihenfolge der Marker C-O-P ($\circ$), C-P-O (Δ) und P-C-O ($\square$) berechnet. Die theoretische Kurve (durchgezogene Linie) wurde nach folgender Formel ermittelt:

$$CF = \frac{1}{2w(1-w)} \times \frac{(1-e^{-K'_{ijm}K'_{jkm}})}{(1-e^{-K'_{ijm}})(1-e^{-K'_{jkm}})}$$

(CF = Koinzidenzfaktor, m = durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden, w = Input, K' = Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches)



Figur 17

Vergleich der erwarteten Relation "Transmission zu Rekombinanten" bei variierendem Verhältnis $\rho^+ : \rho^-$ in einer Population (—) mit der experimentellen Ergebnisse heterosexueller Kreuzungen, durchgeführt mit a) der mitochondrialen Mutante *tsm-8* (-.-.-) und b) den karyotischen Mutanten *tsp-20*, *tsp-25* und *tsp-30* (----).

Tabelle 1

Stämme	Kerngenotyp	mitochondrialer Genotyp	Herkunft
M12	<u>a</u> ilv5 trp2 ura3	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T^R$	N.S. Kakar et al. 1964
M12/8	<u>a</u> ilv5 trp2 ura3	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T_8^S$	A. Handwerker et al. 1973
M12/20	<u>a</u> ilv5 trp2 ura3 tsp20	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T^R$	karyotische Mutante von M12
M12/25	<u>a</u> ilv5 trp2 ura3 tsp25	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T^R$	karyotische Mutante von M12
M12/30	<u>a</u> ilv5 trp2 ura3 tsp30	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T^R$	karyotische Mutante von M12
AM311-2A	<u>a</u> ilv5 ura1 tsp20	$\omega^-C_{321}^{R E^R} O_{221}^{R} P^S T^R$	aus Kreuzung M12/20 x SM505-3C
AM1311-2D	<u>a</u> ilv5 trp1 tsp20	$\omega^-C_{321}^{R E^R} O_{221}^{R} P^S T^R$	aus Kreuzung IL216-13 x AM311-2A
BM25-1B	<u>a</u> ilv5 ade1 tsp25	--	aus Kreuzung M12/25 x H243-5
BM1421-1C	<u>a</u> his1 trp2 tsp25	$\omega^+C_{321}^{R E^S} O_1^R P_{454}^{R T^R}$	aus Kreuzung BM25-13 x KL14-4A
BM1421-3C	<u>a</u> his1 trp2 tsp25	$\omega^+C_{321}^{R E^S} O_1^R P_{454}^{R T^R}$	aus Kreuzung BM25-1B x KL14-4A
CM30-2B	<u>a</u> ura1 tsp30	--	aus Kreuzung M12/30 x IL778-2B
CM1431-1A	<u>a</u> his1 tsp30	$\omega^+C_{321}^{R E^S} O_1^R P_{454}^{R T^R}$	aus Kreuzung CM30-2B x KL14-4A
CM1431-2D	<u>a</u> ilv5 tsp30	$\omega^+C_{321}^{R E^S} O_1^R P_{454}^{R T^R}$	aus Kreuzung CM30-2B x KL14-4A
SM11-2D	<u>a</u> ura1	$\omega^-C^S E^S O_1^R P^S T^R$	Schweyen und Kaudewitz 1976
SM302-2C	<u>a</u> ura1	$\omega^-C^R E^S O^S P^S T^R$	Schweyen und Kaudewitz 1976
SM505-3C	<u>a</u> ura1	$\omega^-C_{321}^{R E^R} O_{221}^{R} P^S T^R$	Schweyen und Kaudewitz 1976
SM701-1A	<u>a</u> ura1	$\omega^-C^S E_{221}^{R O^S} P_{454}^{R T^R}$	R.J. Schweyen
SM1050-1B	<u>a</u> ilv5 ura1	$\omega^+C^S E_{221}^{R O^S} P^S T_8^S$	Schweyen und Kaudewitz 1976
SM1211-1B	<u>a</u> ilv5 trp1	$\omega^+C_{321}^{R E^R} O_{221}^{S} P^S T_8^S$	Schweyen und Kaudewitz 1976
H243-5	<u>a</u> ade1 lys2 trp1	--	Sherman und Slonimski 1964
55R5-3C	<u>a</u> ura1	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T^R$	Coen et al. 1970
KL14-4A	<u>a</u> his1 trp2	$\omega^+C_{321}^{R E^S} O_1^R P_{454}^{R T^R}$	Wolf et al. 1973
IL16-12C	<u>a</u> ura1	$\omega^-C_{321}^{R E^S} O^S P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL102-5C	<u>a</u> ura1 his1	$\omega^-C_{321}^{R E^R} O_{221}^{S} P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL125-3A	<u>a</u> ura1	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL125-10C	<u>a</u> ura1	$\omega^-C^S E^S O^S P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL126-2A/52	<u>a</u> ura1	ρ^0	P.P. Slonimski
IL166-6C	<u>a</u> ura1	$\omega^+C^S E^S O^S P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL166-7A	<u>a</u> ura1 his1	$\omega^+C^S E^S O^S P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL216-1A	<u>a</u> ura1	$\omega^+C_{221}^{R E^R} O^S P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL216-1B	<u>a</u> ura1 trp1	$\omega^+C_{221}^{R E^R} O^S P^S T^R$	P.P. Slonimski
IL778-2B	<u>a</u> ura1	$\omega^-C_{321}^{R E^S} O_1^R P^S T^R$	P.P. Slonimski

Kreuzung	Anzahl getestet. Kolonien	% RC	% ts	% RD
M12/20 x SM505-3C rho ⁺	336	98,2	0	1,8
M12/25 x SM505-3C rho ⁺	428	99,3	0	0,7
M12/30 x SM505-3C rho ⁺	335	97,1	0	2,9
M12/20 x IL126-2A/52 rho ^o	478	99,5	0	0,5
M12/25 x IL126-2A/52 rho ^o	396	99,4	0	0,6
M12/30 x IL126-2A/52 rho ^o	529	100	0	0,0

Tabelle 2

Nachweis der karyotischen Vererbung der temperatursensiblen
atmungsdefekten Mutationen tsp-20, tsp-25 und tsp-30 in
Kreuzungen mit rho⁺ und rho^o Stämmen.

Kreuzung	Anzahl getest. Tetraden	4-Sporen Asci		3-Sporen Asci	
		RC	: ts	RC	: ts
AM311-2A tsp20	3	2	: 2		
x	2			2	: 1
IL216-1B	2			1	: 2
AM311-1A tsp20	4	2	: 2		
x	1			2	: 1
KL14-4A	2			1	: 2
BM321-3A tsp25	8	2	: 2		
x	1			2	: 1
IL216-1B	2			1	: 2
BM25-1B tsp25	6	2	: 2		
x	1			2	: 1
KL14-4A	1			1	: 2
CM30-3B tsp30					
x	4	2	: 2		
KL14-4A					
CM30-2D tsp30	1	2	: 2		
x	5	3	: 1		
IL216-1B	1			1	: 2

Tabelle 3

Tetradenanalyse: Die Tetraden wurden aus Kreuzungen mit Stämmen, die die karyotischen Mutationen $tsp-20$, $tsp-25$ oder $tsp-30$ trugen, und ρ^+ Stämmen gewonnen.

Kreuzung	Anzahl getest. Kolonien	%rho ⁺	% ts	%rho ⁻
M12/20 tsp20 x BM25-1B tsp25	517	100	0	0
M12/25 tsp25 x BM25-1B tsp25	544	0	97,4	2,6
M12/30 tsp30 x BM25-1B tsp25	794	99,5	0	0,5
M12/20 tsp20 x CM30-2B tsp30	655	98,5	0	1,5
M12/25 tsp25 x CM30-2B tsp30	604	99,5	0	0,5
M12/30 tsp30 x CM30-2B tsp30	649	0	97,1	2,9

Tabelle 4

Komplementation zwischen den karyotischen temperatursensiblen
atmungsdefekten Mutationen tsp-20, tsp-25 und tsp-30.

Kreuzung	Transmission		Rekombinanten			rho	Anzahl getest. Kolonien
	C ^a	E ^a	T ^a	C ^a E ^a /C ^a E ^a	C ^a T ^a /C ^a T ^a	E ^a T ^a /E ^a T ^a	
SM1211-1B x IL166-7A	41,6	40,4	36,5	4,9/3,7	10,2/5,1	8,4/4,5	782
<u>a</u> tsm8	61,3	60,4	57,5	3,6/2,7	9,1/5,3	8,6/5,7	778
	C ^a	E ^a	O ^a	C ^a E ^a /C ^a E ^a	C ^a O ^a /C ^a O ^a	E ^a O ^a /E ^a O ^a	
BM1421-1C x IL216-1A	41,4	36,6	34,6	11,3/6,5	14,4/7,5	12,0/12,0	292
<u>a</u> tsp25	C ^a	O ^a	P ^a	C ^a O ^a /C ^a O ^a	C ^a P ^a /C ^a P ^a	O ^a P ^a /O ^a P ^a	
CM1431-1A x IL216-1A	35,5	31,8	28,3	15,7/12,1	13,6/6,4	13,1/9,5	566
<u>a</u> tsp30							

Tabelle 5

Beispiele homosexueller Kreuzungen nach Züchtung der ts-Mutanten bei 23°C

Kreuzung	Generationen in YNB-Medium	$C^S E^S O^R$	$C^R E^R O^S$	Anzahl getest. Kolonien
M12 x SM505-3C	0	56,7 (50,9-62,3)	43,3 (37,7-49,2)	291
	12	51,8 (45,6-58,3)	48,2 (40,9-52,5)	272

Tabelle 7

Vergleich der Wachstumsgeschwindigkeit der reziproken Rekombinanten $C^S E^S O^R$ und $C^R E^R O^S$ in YNB-Medium aus der Kreuzung M12 x SM505-3C.

Beide Rekombinanten wurden im Verhältnis 1:1 gemischt und 12 Generationen bei 23°C in Minimalmedium anaerob gezüchtet, unter den gleichen Bedingungen, unter denen Kreuzungen durchgeführt wurden. Die Mutungsgrenzen sind für eine Streuungswahrscheinlichkeit von 95% angegeben.

Kreuzung	Transmission		Rekombinanten		rho ⁻	Anzahl getest. Kolonien
	C ⁺	E ⁺ O ⁺	C ⁺ E ⁻ /C ⁻ E ⁺	C ⁺ O ⁻ /C ⁻ O ⁺	E ⁺ O ⁻ /E ⁻ O ⁺	
SM1211-1B x SM302-2C ω^+ tsm8	99,2	77,8 51,5	21,4/0	47,9/0,2	29,7/3,4 3,0	472
	C ⁺	E ⁺ T ⁺	C ⁺ E ⁻ /C ⁻ E ⁺	C ⁺ T ⁻ /C ⁻ T ⁺	E ⁺ T ⁻ /E ⁻ T ⁺	
SM1050-1B x IL16-12C ω^+ tsm8	92,9	57,1 40,3	36,1/0,3	52,6/0	22,4/5,5 --	380
	C ⁺	E ⁺ O ⁺	C ⁺ E ⁻ /C ⁻ E ⁺	C ⁺ O ⁻ /C ⁻ O ⁺	E ⁺ O ⁻ /E ⁻ O ⁺	
AM1311-2D x IL166-6C ω^- tsp20	96,8	79,8 57,5	16,9/0	39,3/0	24,0/1,6 1,0	496
	C ⁺	O ⁺ P ⁺	C ⁺ O ⁻ /C ⁻ O ⁺	C ⁺ P ⁻ /C ⁻ P ⁺	O ⁺ P ⁻ /O ⁻ P ⁺	
BM1421-3C x IL125-10C ω^+ tsp25	95,5	65,2 69,1	30,2/0	26,7/0,2	8,6/12,4 3,6	420
	C ⁺	O ⁺ P ⁺	C ⁺ O ⁻ /C ⁻ O ⁺	C ⁺ P ⁻ /C ⁻ P ⁺	O ⁺ P ⁻ /O ⁻ P ⁺	
CM1431-1A x IL125-3A ω^+ tsp30	99,0	40,6 38,9	58,9/0,5	60,4/0,3	13,8/12,0 1,7	399

Tabelle 8

Beispiele heterosexueller Kreuzungen nach Züchtung der ts-Mutanten bei 23°C.

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	C ^a	O ^a	P ^a	rho ⁻ indu- ziert
CM1431-2D	0 YPD 36 ^o	77,6	74,8	80,4	2,2
<u>a</u> tsp30	2,3 YPD 36 ^o	72,3	77,9	76,7	6,3
<u>ω</u> ⁺ C ^R O ^R P ^R	9,6 YPD 36 ^o	22,3	19,2	23,4	86,8
x					
IL166-7A	2,3 YPD 36 ^o +4,0 YPD 23 ^o	65,4	67,8	69,3	28,1
<u>ω</u> ⁺ C ^S O ^S P ^S	2,3 YPD 36 ^o +7,3 YPD 23 ^o	59,0	61,5	63,5	34,2

Tabelle 9

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-30 (Daten aus Tab. 11h).

Zellen des Stammes CM1431-2D (tsp-30) wurden in YPD-Medium 2,3 Generationen bei 36^oC gezüchtet. Darauf wurde die Kultur geteilt, ein Teil bei 36^oC weitergezüchtet und der andere Teil bei 23^oC geschüttelt. Nach verschiedenen Zeiten wurden aus allen Kulturen Proben entnommen, der Anteil an rho⁻ Mutanten bestimmt und durch Kreuzung mit dem rho⁺ Stamm IL166-7A die Transmissionshäufigkeit der mitochondrialen Allele C^a, O^a und P^a ermittelt.

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^{a,a}_E T^a$	$C^{a,a}_E T^a$	$C^{a,a}_E T^a$	$C^{a,a}_E T^a$	$C^{a,a}_E T^a$	$C^{a,a}_E T^a$	$C^{a,a}_E T^a$	Anzahl getest. Kolonien
SM1211-1B	0 YPD 36°	2,0	30,2	6,5	1,2	3,7	1,8	1,9	3,3	782
$\omega^+ C^{R,R}_E T^S$	1,5 YPD 36°	15,0	25,2	3,1	0,4	1,2	1,5	1,5	2,3	262
	3,5 YPD 36°	45,0	13,6	0,5	0,5	1,4	0,0	1,4	0,9	220
x	4,5 YPD 36°	70,0	13,3	3,6	2,0	0,3	1,3	0,7	2,7	302
	5,5 YPD 36°	80,0	6,3	0,0	1,3	0,8	0,4	2,5	3,0	237
IL166-7A	7,0 YPD 36°	95,0	9,7	2,0	0,6	0,9	0,0	2,3	2,0	351
$\omega^+ S^S E^R T^R$	0 YPD 36°	3,0	33,6	1,7	1,0	1,8	2,2	0,5	3,2	599
	2,5 YPD 36°	30,0	13,6	2,5	2,7	0,9	0,4	0,9	3,2	774
	5 YPD 36°	75,0	5,5	1,3	0,8	0,5	0,4	0,3	1,9	1877
	7,5 YPD 36°	95,0	0,5	0,3	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	1539
	10,0 YPD 36°	100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4000

Tabelle 10a
Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	C ^{a,a,a} _E T ^a	C ^{a,a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	C ^{a,a} _E T ^a	Anzahl getestet. Kolonien
SM1211-1B	0 YPD 36°		28,7	2,6	0,9	3,5	2,6	2,6	4,4	54,8	115					
a [t sm8]	1 YPD 36°		33,0	2,8	2,8	0,9	0,9	4,6	0,9	54,1	109					
ω ⁺ C _E T ^S	2 YPD 36°		33,3	2,9	1,0	1,0	0,0	0,0	1,0	61,0	105					
x	3 YPD 36°		30,2	4,2	1,4	2,6	0,9	2,3	2,7	55,8	430					
	4 YPD 36°		28,9	0,0	0,0	2,2	0,0	0,0	2,2	66,7	45					
IL166-7A	5 YPD 36°		27,2	4,1	0,0	5,4	2,0	0,7	4,8	55,8	147					
Δ ⁺ S _E T ^R	6 YPD 36°		35,5	1,3	2,6	0,0	0,0	5,3	1,3	54,0	76					
ω ⁺ C _E T ^R	7 YPD 36°		20,9	1,4	1,1	1,4	1,1	1,1	1,1	72,1	287					
	0 YPD 23°		33,8	2,8	3,5	1,4	1,4	2,1	1,4	53,5	142					
	2 YPD 23°		29,8	1,2	2,3	4,7	1,8	1,8	1,8	56,7	171					
	4 YPD 23°		28,2	2,6	5,1	2,6	2,6	0,0	7,7	51,3	39					
	5,5 YPD 23°		42,0	4,0	1,8	2,2	1,3	1,8	8,5	38,4	224					

Tabelle 10b

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-ε

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a}$	$C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a}$	$C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a}$	$C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a}$	$C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a} C_{E,T}^{a,a}$	Anzahl getest. Kolonien		
SM1211-1B $a_{[sm8]}$ $\omega_{C_{E,T}^R} S$	0 YPD 36°	1,0	62,3	4,1	0,6	1,2	2,0	1,6	26,5	491
	1 YPD 36°	5,0	33,3	4,5	2,7	1,0	2,0	1,0	52,7	402
	2 YPD 36°	10,0	24,7	6,6	0,9	1,9	1,1	0,9	60,1	469
	3 YPD 36°	25,0	27,6	4,4	1,2	2,6	1,6	1,4	56,5	407
x										
IL166-7A $\Delta_{\omega_{C_{E,T}^R} S} S_{E,T}^R$	0 YPD 36°	2,0	60,2	6,1	2,2	2,2	1,4	1,4	24,7	279
	0 YPD 36°	3,0	56,6	3,6	1,8	0,9	0,5	0,9	33,9	221
	0,3 YPD 36°	10,0	54,6	3,9	1,5	1,5	1,0	0,0	33,3	207
	1,5 YPD 36°	20,0	41,6	8,2	2,3	1,4	3,7	2,7	34,3	219
	3 YPD 36°	50,0	38,4	3,3	0,3	1,2	1,2	1,5	50,2	339
	5,5 YPD 36°	80,0	29,8	4,5	1,7	2,5	2,2	3,1	54,6	359
5 YPD 23°	20,0		60,1	2,3	3,3	2,5	1,4	0,8	27,0	319

Tabelle 10c

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho ⁻ indu- ziert	E ^a P ^a	E ^a P ^x	E ^x P ^a	E ^x P ^x	Anzahl getestet. Kolonien
M12/20	0 YPD36 ^o	4,0	51,9	12,0	6,4	29,7	266
<u>a</u> tsp20	1,5 YPD36 ^o	20,0	42,4	13,3	2,5	41,9	203
ω ⁻ E ^S P ^S	2,8 YPD36 ^o	65,0	40,4	12,3	2,9	44,8	277
x	3,3 YPD36 ^o	80,0	31,2	9,4	7,9	51,5	266
SM701-1A	4,5 YPD36 ^o	95,0	24,3	20,1	6,7	48,9	268
<u>k</u>	5,5 YPD36 ^o	99,0	13,4	16,6	3,4	66,7	531
ω ⁻ E ^R P ^R	5,5 YPD23 ^o	10,0	52,4	20,5	4,8	22,3	166
M12/25	0 YPD36 ^o	2,0	45,6	13,6	2,6	38,2	228
<u>a</u> tsp25	2 YPD36 ^o	5,0	45,0	13,4	5,3	36,3	262
ω ⁻ E ^S P ^S	3 YPD36 ^o	20,0	42,9	12,0	7,1	38,0	184
x	4 YPD36 ^o	30,0	42,6	8,4	5,1	43,9	453
SM701-1A	4,8 YPD36 ^o	50,0	27,6	15,1	5,1	52,2	391
<u>k</u>	5,8 YPD36 ^o	70,0	32,1	15,8	5,6	46,6	234
ω ⁻ E ^R P ^R	5,5 YPD23 ^o	5,0	47,1	19,0	2,0	32,0	153
M12/30	0 YPD36 ^o	2,0	54,0	15,3	7,3	23,4	124
<u>a</u> tsp30	1,5 YPD36 ^o	1,0	42,0	15,4	6,0	36,6	331
ω ⁻ E ^S P ^S	2,8 YPD36 ^o	20,0	35,6	19,4	7,6	37,4	211
x	3,3 YPD36 ^o	40,0	32,6	25,6	4,8	37,0	227
SM701-1A	4,3 YPD36 ^o	60,0	28,7	20,2	3,7	47,4	268
<u>k</u>	5 YPD36 ^o	95,0	16,4	25,6	4,2	53,8	578
ω ⁻ E ^R P ^R	5 YPD23 ^o	20,0	32,4	14,8	5,6	47,2	411

Tabelle 11a

Homosexuelle zwei-Faktor-Kreuzungen mit den karyotischen
Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^a E^a O^a$	$C^a E^a O^a$	$C^a E^a O^a$	$C^a E^a O^a$	$C^a E^a O^a$	$C^a E^a O^a$	$C^a E^a O^a$	Anzahl getestet. Kolonien	
M12/20	0 YPD 36°	8,7	54,0	20,6	0,0	1,4	0,9	1,9	2,8	18,3	213
ω -C ^S E ^S O ^S	1 YPD 36°	20,5	43,2	24,6	0,0	1,9	0,4	1,9	2,3	25,8	264
	2,5 YPD 36°	23,3	39,1	22,1	0,0	1,4	0,7	2,0	1,7	33,0	294
	5 YPD 36°	73,5	35,5	20,0	0,0	0,6	0,6	0,8	3,9	38,8	361
x	5,6 YPD 36°	83,0	30,3	21,9	0,5	1,3	0,5	1,8	2,9	40,7	383
	6,75 YPD 36°	96,0	32,2	21,4	0,8	0,4	0,8	2,3	4,9	37,5	267
SM505-3C	8 YPD 36°	99,0	20,7	16,4	0,4	1,1	1,5	1,1	3,6	55,3	275
ω -C ^R E ^R O ^R	8,75 YPD 36°	99,5	12,3	13,5	0,0	1,2	1,2	2,8	6,0	63,1	252
	9,75 YPD 36°	99,0	5,5	13,3	0,0	2,6	0,0	1,8	3,1	73,7	384
	10,3 YPD 36°	100	11,2	13,8	0,0	0,5	0,5	0,9	7,1	66,1	224
	12 YPD 36°	100	5,4	16,8	0,0	1,6	0,0	3,4	2,3	70,6	388
	15 YPD 36°	100	5,0	10,7	0,0	1,9	0,0	0,6	1,9	79,9	159
	19,6 YPD 36°	100	1,5	7,7	0,0	2,6	0,0	0,5	4,1	83,7	196
	2,5 YPD 23°	11,9	54,6	18,8	1,1	1,1	0,6	2,3	1,7	19,9	176
	6 YPD 23°	13,0	54,5	12,5	0,3	0,7	1,0	2,0	4,3	24,8	303
	10 YPD 23°	28,4	48,4	16,5	1,0	2,2	1,3	3,8	3,2	23,7	316

Tabelle 11b

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-20

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^a a^a C^a E^o$	$C^a E^o a^a C^a E^o$	$C^a E^o a^a C^a E^o$	$C^a E^o a^a C^a E^o$	$C^a E^o a^a C^a E^o$	$C^a E^o a^a C^a E^o$	Anzahl getest. Kolonien
M12/20	0 YPD 36°	4,0	44,2	14,8	0,0	0,8	0,8	1,6	500
a tsp20	1,5 YPD 36°	20,0	26,9	12,9	0,4	0,8	0,2	1,5	520
$\omega^- C^a E^o S^S$	2,75 YPD 36°	65,0	27,5	13,7	0,2	1,2	0,8	2,1	483
x	3,5 YPD 36°	80,0	20,1	13,6	0,0	0,9	0,9	1,4	214
SM505-3C	4,5 YPD 36°	95,0	15,5	17,7	0,0	0,5	0,0	1,6	187
$\omega^- C^a E^o R$	5,5 YPD 36°	99,0	4,8	8,2	0,0	1,5	0,0	2,9	207
$\omega^- C^a E^o R$	5,5 YPD 23°	10,0	36,0	20,9	0,0	0,3	0,6	1,4	364

Tabelle 11c

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-20

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^aE^aO^a$	$C^aE^aO^a$	$C^aE^aO^a$	$C^aE^aO^a$	$C^aE^aO^a$	$C^aE^aO^a$	Anzahl getest. Kolonien
M12/25	0 YPD 36°	0,0	51,3	17,8	0,0	0,6	1,1	1,5	472
a tsp25	2,3 YPD 36°	11,8	42,6	12,6	0,9	0,9	0,5	1,4	223
$\omega^-C^aE^aO^a$	5,3 YPD 36°	47,0	33,4	15,8	0,8	1,3	1,1	3,2	374
x	7,3 YPD 36°	80,0	23,9	13,3	0,3	0,5	1,1	1,6	368
SM505-3C	9,3 YPD 36°	99,0	9,0	18,7	0,0	2,6	0,0	1,4	422
	13,25 YPD 36°	100	3,3	10,4	0,0	0,4	0,4	0,8	241
$\omega^-R^aR^a$	19,5 YPD 36°	100	1,2	1,2	0,0	0,6	0,0	0,0	167
$\omega^-C^aE^aO^a$	6 YPD 23°	2,0	22,8	21,6	2,1	6,1	0,0	0,7	426
	10 YPD 23°	1,9	23,3	23,8	0,8	6,3	0,3	0,8	395

Tabelle 11d

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-25

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C_E^{A,a} O^a$	$C_E^{A,a} O^a$	$C_E^{A,a} O^a$	$C_E^{A,a} O^a$	$C_E^{A,a} O^a$	$C_E^{A,a} O^a$	$C_E^{A,a} O^a$	$C_E^{A,a} O^a$	Anzahl geest.- Kolonen
M12/25	0 YPD 36 ⁰	2,0	41,1	13,0	0,0	0,3	0,8	0,0	0,0	38,9	399
Δ esp25	2 YPD 36 ⁰	5,0	38,5	15,2	0,2	0,4	1,8	1,0	1,0	37,9	499
$\omega^- S_E^+ O^S$	3 YPD 36 ⁰	20,0	37,1	11,5	0,8	0,5	0,3	0,3	0,3	46,0	383
x	4 YPD 36 ⁰	30,0	34,7	9,7	0,4	0,9	0,2	0,4	0,4	49,8	464
SM505-3C	4,75 YPD 36 ⁰	50,0	26,6	10,4	0,3	0,3	0,0	0,3	0,3	56,7	376
Δ	5,75 YPD 36 ⁰	70,0	21,0	13,2	0,1	2,4	0,6	1,1	1,1	58,3	715
$\omega^- C_E^R R$	5,5 YPD 23 ⁰	5,0	28,7	18,2	0,0	0,3	1,3	1,7	1,7	44,6	303

Tabelle 11e

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante Esp-25

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C_E^{a,a} C_E^{a,a}$	$C_E^{a,a} C_E^{a,a}$	$C_E^{a,a} C_E^{a,a}$	$C_E^{a,a} C_E^{a,a}$	$C_E^{a,a} C_E^{a,a}$	$C_E^{a,a} C_E^{a,a}$	$C_E^{a,a} C_E^{a,a}$	Anzahl getest. Kolonien	
BM1421-1C	0 YPG 36°	0,5	21,6	8,5	5,5	5,8	1,0	5,5	6,5	46,6	292
$\underline{a}$ tsp25	4,5 YPD 36°	29,5	29,3	24,1	0,8	2,1	2,4	20,1	2,4	18,8	532
$\omega_{C_E^{R,S}O}^+$	5,6 YPD 36°	57,0	30,3	14,9	3,7	3,7	2,9	7,1	5,4	32,0	241
x	11 YPD 36°	100	86,7	6,0	1,0	0,0	2,2	0,6	1,2	2,4	504
IL216-1A	15,3 YPD 36°	100	99,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	432
$\underline{a}$	4,5 YPD 36°	95,8	56,9	13,4	2,6	2,6	3,4	3,4	7,4	10,4	269
$\omega_{C_E^{R,S}O}^+$	+5 YPD 23°	99,1	68,3	21,3	1,0	0,0	0,5	2,5	2,0	4,5	202
	+10 YPD 23°										

Tabelle 11f

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-25

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^aE^0a^a$	$C^aE^0a^a$	$C^aE^0a^a$	$C^aE^0a^a$	$C^aE^0a^a$	$C^aE^0a^a$	$C^aE^0a^a$	$C^aE^0a^a$	Anzahl getest. Kolonien
M12/30	0 YPD 36°	2,0	40,3	14,3	0,0	0,6	1,5	2,4	8,4	32,5	335
$\frac{a}{a} \frac{tsp30}{tsp30}$	1,5 YPD 36°	1,0	38,3	11,6	0,2	1,0	1,2	0,5	7,4	39,8	593
$\frac{a}{a} \frac{S^S}{C^aE^0}$	2,75 YPD 36°	20,0	38,8	9,7	0,4	0,9	1,3	0,9	6,1	41,9	544
x	3,3 YPD 36°	40,0	33,7	13,0	0,0	0,5	0,7	2,0	6,1	44,0	409
	4,3 YPD 36°	60,0	31,5	10,6	0,0	1,1	1,9	2,4	6,9	45,8	378
SM505-3C	5 YPD 36°	95,0	20,8	17,3	0,7	1,1	2,0	2,9	6,4	48,9	456
$\frac{a}{a} \frac{P^R}{C^aE^0}$	5 YPD 23°	20,0	33,7	9,7	0,4	1,4	0,8	1,8	7,5	44,9	508

Tabelle 11g

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-30

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	C ^a ₀ P ^a	C ^a ₀ P ^a	C ^a ₀ P ^a	C ^a ₀ P ^a	C ^a ₀ P ^a	C ^a ₀ P ^a	C ^a ₀ P ^a	Anzahl getest. Kolonien
CM1431-2D	0 YPD 36°	2,2	68,2	1,1	4,9	3,5	3,2	2,5	4,2	286
a tsp30	2,3 YPD 36°	6,3	65,7	2,5	2,5	1,6	5,3	4,4	3,1	321
ω ⁺ C ^a ₀ P ^R	4,3 YPD 36°	26,8	54,6	2,7	3,6	1,8	3,3	3,0	7,7	337
x	7,5 YPD 36°	85,2	29,7	6,0	1,7	3,3	2,2	8,8	3,9	182
	9,6 YPD 36°	86,8	11,7	3,7	3,7	3,2	1,1	2,7	6,9	188
IL166-7A	12,5 YPD 36°	100	2,3	3,4	2,8	4,0	0,0	0,0	2,8	176
k	15,6 YPD 36°	100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	229
ω ⁺ C ^a ₀ S ^S P ^S	8,3 YPD 23°	11,7	39,7	9,0	2,6	1,9	5,1	1,9	9,0	156
	2,3 YPD 36°									
	+4 YPD 23°	28,1	53,2	5,6	3,7	2,9	5,6	3,4	6,8	410
	2,3 YPD 36°									
	+7,3 YPD 23°	34,2	46,2	4,5	5,9	2,4	5,2	5,6	6,3	288

Tabelle 11h

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-30

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	C ^a O ^a p ^a	C ^a O ^a P ^a	C ^a O ^a p ^a	C ^a O ^a P ^a	C ^a O ^a p ^a	C ^a O ^a P ^a	C ^a O ^a p ^a	C ^a O ^a P ^a	Anzahl getest. Kolonien
CM1431-1A	0 YPD 36°	1,7	15,4	4,4	6,5	9,2	3,4	8,7	3,0	49,5	566
<u>Δ</u> tsp30	2,5 YPD 36°	5,6	15,5	5,3	7,0	10,4	2,9	8,0	4,6	46,1	412
<u>ω</u> ⁺ C ^R O ^R P ^R	4,3 YPD 36°	47,6	24,2	6,7	8,4	4,5	3,2	9,4	4,5	39,3	405
x	7,5 YPD 36°	95,2	35,1	8,3	7,9	6,4	6,0	6,9	6,9	22,7	582
	9,6 YPD 36°	98,2	38,8	11,6	9,3	4,9	8,3	4,9	9,9	12,3	528
IL216-1A	12,5 YPD 36°	100	72,5	2,2	4,4	0,7	9,4	2,2	5,1	3,6	138
<u>Δ</u> <u>ω</u> ⁺ S ^S O ^S P ^S	15,6 YPD 36°	100	95,6	0,5	0,0	0,0	3,9	0,0	0,0	0,0	204
	8,3 YPD 23°	19,4	28,1	5,7	6,7	10,7	3,6	5,7	4,2	35,4	477
	14,3 YPD 23°	50,6	22,5	5,7	7,4	7,7	7,1	4,2	5,6	39,8	595
	2,5 YPD 36°	36,8	17,4	4,7	6,0	9,0	2,9	8,0	5,8	46,3	553
	+4,0 YPD 23°										
	2,5 YPD 36°	46,1	18,2	7,3	8,0	10,3	3,9	6,4	5,5	40,6	439
	+7,0 YPD 23°										

Tabelle 11i

Homosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-30

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho ⁻ indu- ziert	C ⁺ E ⁺ T ⁺	C ⁺ E ⁺ T ⁻	C ⁺ E ⁻ T ⁺	C ⁺ E ⁻ T ⁻	C ⁻ E ⁺ T ⁺	C ⁻ E ⁺ T ⁻	C ⁻ E ⁻ T ⁺	C ⁻ E ⁻ T ⁻	Anzahl getestet. Kolonien
SM1050-1B	0 YPD 36°		34,7	22,1	5,5	30,5	0,0	0,3	0,0	6,8	380
ω [tsm8]	1 YPD 36°		21,1	34,7	4,2	39,0	0,0	0,0	0,0	0,9	213
ω C ⁺ E ⁺ T ⁺ S	2 YPD 36°		27,1	26,6	1,4	34,6	0,0	4,2	0,0	6,1	214
x	3,2 YPD 36°		21,0	30,1	1,4	37,1	0,0	0,0	0,0	10,5	143
	4,7 YPD 36°		17,2	22,7	3,0	30,8	0,0	1,5	0,0	24,8	198
IL16-12C	5,5 YPD 36°		21,9	20,4	3,6	36,2	0,0	0,0	0,0	17,9	196
ω C ⁻ E ⁺ T ⁺ S ⁻ R	7 YPD 36°		15,7	16,9	5,1	37,7	0,0	0,9	0,0	23,8	433

Tabelle 12a
Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^+E^+T^+$	$C^+E^+T^-$	$C^+E^-T^+$	$C^+E^-T^-$	$C^-E^+T^+$	$C^-E^+T^-$	$C^-E^-T^+$	$C^-E^-T^-$	Anzahl getest. Kolonien
SM1050-1B	0 YPD 36°	20,0	77,4	7,3	0,6	12,8	0,0	0,6	0,0	1,2	164
Σ [tsm8]	1 YPD 36°		54,0	13,0	3,6	23,0	0,0	0,7	0,0	5,8	139
$\omega^+C^+E^+T^+S$	2 YPD 36°		47,9	30,9	6,0	11,5	0,0	0,0	0,5	3,2	217
x	3,2 YPD 36°		53,3	22,1	4,9	19,7	0,0	0,0	0,0	0,0	122
	4,7 YPD 36°		40,3	16,1	6,0	22,8	0,0	0,0	0,0	14,8	149
SM11-2D	5,5 YPD 36°		33,7	25,1	4,6	24,6	0,6	0,0	0,6	10,9	175
Σ $\omega^-C^+E^+T^+S^+R$	7 YPD 36°	60,0	33,1	24,5	4,3	25,2	0,0	0,0	0,0	13,0	139
	0 YPD 36°	20,0	54,8	18,8	5,5	20,3	0,0	0,0	0,0	0,6	489
	1,5 YPD 36°	50,0	69,0	7,7	2,3	13,4	0,0	0,0	0,3	7,4	351
	3,2 YPD 36°		47,7	21,2	2,5	14,7	0,0	0,0	0,4	13,6	279
	5,5 YPD 36°		15,1	41,4	2,5	11,9	0,0	1,3	0,0	27,9	319
	7 YPD 36°	95,0	11,7	22,6	0,9	20,2	0,0	0,3	0,0	44,3	341

Tabelle 12b
Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	Anzahl getestet. Kolonien
SM1211-1B	0 YPD 36°	1,0	27,2	18,9	13,0	37,3	0,6	0,0	0,6	2,4	169
a [tsm8]	0 YPD 36°	1,0	18,4	19,1	6,6	47,4	1,3	3,3	0,0	4,0	152
$\omega^+R_{EO}S$	0,3 YPD 36°	2,0	24,0	24,0	7,7	35,6	0,0	1,9	0,0	6,7	104
x	1,5 YPD 36°	15,0	7,7	38,5	0,0	34,6	3,9	0,0	7,7	7,7	26
SM302-2C	3 YPD 36°	50,0	16,2	5,1	2,6	48,7	0,0	1,7	2,6	23,1	117
	4,5 YPD 36°	75,0	13,0	8,6	10,5	47,5	0,0	2,5	1,2	16,7	162
$\omega^+C^+S_{EO}R$	5 YPD 23°	30,0	16,0	18,7	6,4	54,6	0,3	0,0	1,0	3,2	407
	0 YPD 36°	3,0	16,0	28,5	5,2	44,5	0,0	0,2	0,3	5,5	657
	2,5 YPD 36°	30,0	6,8	13,0	3,2	36,7	0,0	0,0	3,0	37,2	629
	5 YPD 36°	75,0	1,8	3,9	2,0	22,6	0,1	0,9	0,9	67,7	1640
	7,5 YPD 36°	95,0	0,0	2,2	1,0	5,3	0,0	0,1	0,0	91,4	826
	10 YPD 36°	100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	4000

Tabelle 12c
Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante. tsm-8

Kreuzung	Generationen rho- Wachstums- bedingungen	rho- ziert	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	$\frac{1}{4}$ +	Anzahl getest. Kolonien
SM1211-13	0 YPD36°	25.6	20.5	8.5	3.7	7.8	2.7	2.8	1.5	44.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	844
Δ ω C ⁺ R ₀ S ₂ S ₈	0 YPD36°	25.6	17.1	1.8	3.4	6.2	1.6	0.5	2.6	60.0	0.3	0.5	0.0	0.3	0.0	0.3	0.3	585
ω C ⁺ E ⁺ O ⁺ T ⁺ 8	1 YPD36°	34.4	15.4	6.7	1.7	7.7	0.8	1.9	0.7	56.0	0.0	0.4	0.0	0.4	0.1	0.4	0.1	728
x	2 YPD36°	34.7	8.4	7.9	3.9	9.5	1.1	2.4	3.4	52.5	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	0.0	0.3	581
SM302-2C	3 YPD36°	41.0	12.1	6.9	1.3	3.6	1.7	1.3	1.2	42.3	0.6	0.2	0.0	0.4	0.0	0.3	0.3	693
Δ ω C ⁺ S ₂ R ⁺	5 YPD36°	74.4	5.4	2.5	0.7	4.7	0.3	1.6	1.6	35.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	965
ω C ⁺ S ₂ O ⁺ T ⁺ 1	7 YPD36°	80.9	2.6	1.1	0.5	2.3	0.1	0.8	0.1	13.6	0.4	0.0	0.2	0.0	0.2	0.0	0.0	1244
ω C ⁺ S ₂ O ⁺ T ⁺ 2	9 YPD36°	93.4	1.5	0.4	0.1	0.7	0.1	0.1	0.0	8.4	0.2	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	1244
10.5 YPD36°	10.5 YPD36°	98.2	0.7	0.7	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	6.7	0.5	0.0	0.0	0.7	0.0	0.1	0.0	751
12 YPD36°	12 YPD36°		0.0	0.2	0.0	1.2	0.0	0.2	0.0	4.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	510
13.5 YPD36°	13.5 YPD36°	99.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	1.4	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0	1.0	96.9	421
14 YPD36°	14 YPD36°		0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	1.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	904
0 YPD23°	0 YPD23°	20.2	31.2	5.5	5.0	15.4	2.3	2.0	2.4	33.2	0.1	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.1	1020
3 YPD23°	3 YPD23°	25.6	20.5	8.5	3.7	7.8	2.7	2.8	1.5	44.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	844
5 YPD23°	5 YPD23°	31.7	16.4	8.2	3.8	4.7	3.5	3.3	3.5	44.6	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.5	426
8 YPD23°	8 YPD23°	31.3	17.4	3.6	1.9	7.7	1.5	0.7	2.7	54.7	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	415

Tabelle 12d
Heterosexuelle vier-Faktor-Kreuzungen mit der mitochondrialen Mutante tsm-8

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	$C^+E^+O^+$	$C^+E^+O^-$	Anzahl getest. Kolonien
AM1311-2D	0 YPD 36°	1,0	55,9	24,0	1,6	15,3	0,0	0,0	0,0	3,2	496
a tsp20	3,5 YPD 36°	1,0	55,5	21,2	3,0	15,3	0,2	0,0	0,0	4,9	575
$\omega^-C^+E^+O^+R$	6,6 YPD 36°	41,3	63,8	15,5	2,0	13,1	0,3	0,0	0,3	5,2	406
x	10,3 YPD 36°	76,4	62,2	12,2	4,1	15,7	0,0	0,0	0,0	5,8	516
IL166-6C	13,0 YPD 36°	88,5	62,9	14,1	2,8	9,5	0,0	0,0	0,4	10,3	283
	17,25 YPD 36°	99,0	89,9	3,6	5,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	496
$\omega^+S^+S^+O^+S$	20,0 YPD 36°	100	94,5	1,6	3,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	436
$\omega^+C^+E^+O^+S$	26,5 YPD 36°	100	97,8	1,1	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	361
	16,75 YPD 23°	9,6	59,0	22,7	3,0	11,9	0,0	0,0	0,0	3,5	405

Tabelle 13a

Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-20

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	C ⁺ O ⁺ P ⁺	C ⁺ O ⁺ P ⁻	C ⁺ O ⁻ P ⁺	C ⁺ O ⁻ P ⁻	C ⁻ O ⁺ P ⁺	C ⁻ O ⁺ P ⁻	C ⁻ O ⁻ P ⁺	C ⁻ O ⁻ P ⁻	Anzahl getest. Kolonien
BM1421-1C	0 YPD 36°	0,5	25,2	30,0	2,4	28,8	1,8	1,8	0,0	9,9	333
Δ tsp25	5,6 YPD 36°	57,0	29,7	26,0	3,1	21,9	4,7	1,6	1,0	12,0	192
Δ C ⁺ O ⁺ P ⁺ R	8,3 YPD 36°	97,0	7,6	17,2	2,0	41,6	0,0	4,0	1,7	26,1	303
x	11,0 YPD 36°	100	0,0	7,7	0,4	23,1	0,0	3,9	2,7	62,3	260
55R5-3C	15,3 YPD 36°	100	0,0	0,5	0,0	1,2	0,0	0,7	0,7	96,9	425
Δ	17,25 YPD 36°	100	0,0	0,0	1,3	2,1	0,0	0,0	0,4	96,3	241
Δ C ⁺ O ⁺ P ⁺ S	24,0 YPD 36°	100	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	242
	4,5 YPD 36°										
	+5,0 YPD 23°	96,0	6,7	23,3	2,5	24,7	1,4	12,6	1,1	27,5	356
	4,5 YPD 36°										
	+10,0 YPD 23°	99,0	1,6	7,8	1,6	8,3	1,0	14,5	5,2	60,1	193

Tabelle 13b

Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-25

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^+O^+P^+$	$C^+O^+P^-$	$C^+O^-P^+$	$C^+O^-P^-$	$C^-O^+P^+$	$C^-O^+P^-$	$C^-O^-P^+$	$C^-O^-P^-$	Anzahl getestet. Kolonien
BM1421-3C	0 YPD 36°	3,6	56,7	8,6	12,1	18,1	0,0	0,0	0,2	4,3	420
a tsp25	2,0 YPD 36°	25,8	43,8	13,1	10,6	28,8	0,2	0,7	0,2	2,5	434
$\omega^+C^+O^+P^+R$	4,0 YPD 36°	60,0	40,9	9,9	9,4	28,9	1,0	1,3	1,6	7,0	384
x	6,25 YPD 36°	92,1	26,9	8,8	11,5	26,7	0,8	2,1	3,3	20,0	480
	7,5 YPD 36°	98,9	21,0	8,6	6,4	44,7	0,4	0,6	0,6	17,7	486
IL125-10C	8,6 YPD 36°	97,6	16,0	10,8	6,1	34,8	0,3	1,1	0,6	30,4	362
	9,6 YPD 36°	100	13,9	8,9	4,5	30,2	0,0	2,0	2,5	38,1	202
$\omega^+C^+O^+P^+S$											

Tabelle 13c
Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-25

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho ⁻ indu- ziert	C ⁺ O ⁺	C ⁺ O ⁻	C ⁻ O ⁺	C ⁻ O ⁻	Anzahl getestet. Kolonien
CM1431-2D	0 YPD36 ⁰	2,2	54,4	44,8	0,0	0,8	502
<u>a</u> tsp30	2,3 YPD36 ⁰	6,3	56,3	41,9	0,5	1,4	432
$\omega^+ C^{ROR}$	4,3 YPD36 ⁰	27,0	51,3	45,2	0,7	2,9	560
x	7,5 YPD36 ⁰	85,2	28,9	55,3	1,4	14,4	571
	9,6 YPD36 ⁰	86,8	20,8	52,4	0,7	26,1	418
IL102-5C	11,5 YPD36 ⁰	100	9,8	42,6	0,8	46,8	641
$\frac{e}{\omega^-} C^{SOS}$	14,0 YPD36 ⁰	100	0,0	5,9	0,0	94,1	426
	8,5 YPD23 ⁰	11,7	40,6	56,1	0,0	3,3	515
	14,5 YPD23 ⁰	35,4	41,3	43,2	1,3	14,2	387
	2,3 YPD36 ⁰						
+4,0	YPD23 ⁰	28,1	50,8	46,8	0,0	2,4	630
	2,3 YPD36 ⁰						
+7,3	YPD23 ⁰	34,2	37,7	52,1	1,7	8,4	403

Tabelle 13d

Heterosexuelle zwei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen
Mutante tsp-30

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho- indu- ziert	$C^+O^+P^+$	$C^+O^+P^-$	$C^+O^-P^+$	$C^+O^-P^-$	$C^-O^+P^+$	$C^-O^+P^-$	Anzahl getest. Kolonien
CM1431-2D	0 YPD 36°	0,0	52,0	6,5	10,0	30,0	0,0	0,0	310
a tsp30	2,0 YPD 36°	4,6	58,7	8,7	10,1	18,1	0,0	0,0	298
ω^+R_RR	4,0 YPD 36°	8,3	54,0	10,2	9,8	20,9	0,0	0,0	215
x	6,0 YPD 36°	25,9	38,0	11,3	15,1	23,4	1,0	0,3	397
	7,25 YPD 36°	56,5	13,2	14,2	9,8	28,1	1,0	2,0	295
IL125-10C	8,25 YPD 36°	97,3	6,2	7,3	5,1	39,6	0,7	1,8	273
$\omega^-S_S S_S$	9,25 YPD 36°	98,4	3,6	6,0	4,8	39,8	0,0	1,2	251
$\omega^-C_O P^S$	10,0 YPD 36°	100	3,3	5,2	2,7	28,5	0,0	0,6	330
	10,5 YPD 36°	100	0,4	3,4	1,7	26,0	0,0	1,3	466

Tabelle 13e

Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-30

Kreuzung	Generationen Wachstums- bedingungen	rho ⁻ indu- ziert	C ⁺ O ⁺ P ⁺	C ⁺ O ⁺ P ⁻	C ⁺ O ⁻ P ⁺	C ⁺ O ⁻ P ⁻	C ⁻ O ⁺ P ⁺	C ⁻ O ⁺ P ⁻	C ⁻ O ⁻ P ⁺	C ⁻ O ⁻ P ⁻	Anzahl getest. Kolonien
CM1431-1A	0 YPD 36°	1,7	26,6	13,5	12,0	46,9	0,3	0,3	0,0	0,5	399
Δ tsp30	2,5 YPD 36°	5,6	34,4	3,1	34,4	27,7	0,0	0,0	0,0	0,5	195
ω ⁺ R ₁ R ₂ R	4,3 YPD 36°	47,6	25,5	3,1	14,5	46,7	0,4	0,0	0,0	9,8	255
x	7,5 YPD 36°	95,2	6,6	6,6	9,4	70,5	0,4	0,0	2,9	3,7	244
	9,6 YPD 36°	98,3	6,4	6,4	5,7	62,0	0,0	1,6	1,6	16,3	453
IL125-3A	11,5 YPD 36°	100	13,7	0,0	6,5	63,7	0,0	0,0	0,0	16,1	248
Δ ⁻ S ₁ S ₂ S ₃	14,0 YPD 36°	100	0,0	0,0	0,7	3,3	0,0	1,1	0,0	94,9	276
	8,3 YPD 23°	19,4	36,9	6,8	11,4	33,7	0,4	0,4	0,0	10,4	472
	14,3 YPD 23°	50,5	27,4	5,1	10,6	44,7	0,0	0,0	0,0	12,2	237
	2,5 YPD 36°	36,8	24,6	16,1	17,9	37,9	0,0	0,0	0,0	3,5	285
	+4,0 YPD 23°										
	2,5 YPD 36°	46,1	35,6	16,4	7,3	30,9	0,0	0,0	0,0	9,8	275
	+7,0 YPD 23°										

Tabelle 13f

Heterosexuelle drei-Faktor-Kreuzungen mit der karyotischen Mutante tsp-30

analy- siertes Marker- paar	Marker- kombination der getest. Kreuzungen	Anzahl getest. Kreuzungen	$m \times K'$	X^2	Frei- heits- grade
a) C-E	CET	62	0,17	201,3	230
C-O	COT	16	0,50	307,5	64
C-P	CPT				
C-T	COT CET	72	0,29	470,0	280
E-O	EOT	18	0,58	177,5	72
E-P	EPT				
E-T	ET CET EPT EOT	78	0,30	493,7	304
O-P	OPT	11	0,54	84,3	44
P-T	EPT OPT	14	0,36	134,5	56
O-T	OT EOT COT OPT	27	0,53	405,6	108
b) C-E	CEO	63	0,18	1196,4	234
C-P	COP	20	0,72	199,0	77
O-P	COP	20	0,78	125,4	77

Tabelle 14

Ergebnisse der Computeranalyse der homosexuellen Kreuzungen mit a) der mitochondrialen Mutante tsm-8 und b) den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30. (m = durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden, K' = Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches)

analy- siertes Marker- paar	Marker- kombination der getest. Kreuzungen	Anzahl getest. Kreuzungen	m	s _C	s _E	K'	K	X ²	Frei- heits- grade
a) C-E									
	CEO CET	74	3,0	0,99	0,40	0,07	0,14	2022,2	219
C-O									
	CEO								
C-P									
	COT	53	3,1	0,99	--	0,13	0,26	931,5	157
	CPT								
C-T									
	CT								
	CPT	64	3,0	0,99	--	0,13	0,26	1062,2	190
	COT								
	CET								
E-O									
	EOT								
E-P									
	EPT	125	2,1	--	0,50	0,13	0,19	2245,9	492
E-T									
	ET								
	CEO								
	CET								
O-T									
	COT								
O-P									
	EOT	48	3,1	--	--	0,16	--	924,9	192
O-T									
	EOP								
T-P									
	OPT								
	OT								
b) C-E									
	CEO	9	2,3	0,98	0,50	0,16	0,32	28,1	24
C-O									
	CO								
C-P									
	COP	82	2,5	0,98	--	0,13	0,26	1174,5	240
	CEO								
E-O									
	CEO	9	1,8	--	0,60	0,13	0,21	54,8	31
O-P									
	COP	31	2,9	--	--	0,30	--	767,6	124

Tabelle 15: Ergebnisse der Computeranalyse der heterosexuellen Kreuzungen mit a) der mitochondrialen Mutante tsm-8 und b) den karyotischen Mutanten tsp-20, tsp-25 und tsp-30.

(m = durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden, s_C, s_E, K', K = Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches)

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Avner, P.R.; D. Coen; B. Dujon; P.P. Slonimski
Mitochondrial genetics IV. Allelism and mapping studies of
oligomycin-resistant mutants in *S. cerevisiae*.
Molec. gen. Genet. 125, 9-52 (1973)

Bandlow, W; R.J. Schweyen
On the mechanism of petite genesis in Yeast. IV. Biochemical
characterization of a conditional cytoplasmic mutant pro-
ducing petites at restrictive temperature.
Biophys. Res. Commun. 67, 1078-1085 (1975)

Bandlow, W
On the formation of rho⁻ petites in yeast. VI. Expression
of a mitochondrial conditional mutation controlling petite
formation in *Saccharomyces cerevisiae*.
In: Genetics, biogenesis and bioenergetics of mitochondria.
Bandlow, W; R.J. Schweyen; D.Y. Thomas; K. Wolf; F. Kaudewitz
eds.
de Gruyter Berlin, New York (1976)

Bechmann, H.; M. Krüger; E. Böker; W. Bandlow; K. Wolf;
R.J. Schweyen; F. Kaudewitz
On the formation of rho⁻ petites in yeast. II. Phenotypic
expression of a mitochondrial mutation conferring temperature-
sensitivity of growth on non-fermentable substrates and
of rho-factor stability.
in prep. (1977)

Bernardi, G
Molecular genetics of yeast mitochondria.
In: Genetics, biogenesis and bioenergetics of mitochondria.
Bandlow, W.; R.J. Schweyen; D.Y. Thomas; K. Wolf; F. Kaudewitz
eds.
de Gruyter Berlin, New York (1976)

Birky W.C. Jr.

Effects of glucose repression on the transmission and recombination of mitochondrial genes in yeast (*Saccharomyces cerevisiae*).

Genetics 80, 695-709 (1975)

Böker, E.; F. Kaudewitz; K.V. Richmond; R.J. Schweyen;

D.Y. Thomas

The effect of glucose on the number of mitochondrial genomes participating in mitochondrial crosses.

In: Genetics, biogenesis and bioenergetics of mitochondria.

Bandlow, W.; R.J. Schweyen; D.Y. Thomas; K. Wolf; F. Kaudewitz eds.

de Gruyter Berlin, New York (1976)

Bolotin, M.; D. Coen; J. Deutsch, B. Dujon; P. Netter;

E. Petrochilo; P.P. Slonimski

La recombinaison des mitochondries chez *Saccharomyces cerevisiae*.

Bull. Inst. Pasteur 69, 215-239, (1971)

Borst, P.

Mitochondrial nucleic acids.

Ann. Rev. Biochem. 41, 333-337 (1972)

Burkl, G.; W. Demmer; H. Holzner; E. Schweizer

Temperature sensitive nuclear "petite" mutants of *Saccharomyces cerevisiae*.

In: Genetics, biogenesis and bioenergetics in mitochondria.

Bandlow, W.; R.J. Schweyen; D.Y. Thomas; K. Wolf; F. Kaudewitz eds.

de Gruyter Berlin, New York (1976)

Butow R.A.; M.J. Ferguson; A. Cederbaum

Low temperature induction of respiratory deficiency in yeast.

Biochemistry 12, 158-164 (1973)

Carnevali, F.; G. Morpurgo; G. Tecce

Cytoplasmic DNA from petite colonies of *Saccharomyces cerevisiae*: A hypothesis on the nature of the mutation.

Science 163 1331-1333 (1969)

Clark-Walker, G.D.; G.L.G. Miklos

Mitochondrial genetics, circular DNA and the mechanism of the petite mutation in yeast.

Genet. Res. 24, 43-57 (1974)

Coen, D.; J. Deutsch; P. Netter; E. Petrochilo; P.P. Slonimski

Mitochondrial genetics I. Methodology and phenomenology

In: Control of organelle developement. Symp. Soc. exp.

Biol. XXIV P. Miller eds.

Cambridge: at the university press 449-496 (1970)

Deutsch, J.; B. Dujon; P. Netter; E. Petrochilo; P.P. Slonimski;

M. Bolotin-Fukuhara; D. Coen

Mitochondrial genetics VI. The petite mutation in *Saccharo-*

myces cerevisiae: Interrelation between the loss of the

ρ^+ factor and the loss of the drug resistant mitochondrial genetic markers.

Genetics 76, 195-219 (1974)

Dujon, B.; G. Michaelis

V. Extrakaryotic inheritance

In: Fortschritte der Botanik 36. Herausgeber: H. Ellenberg;

K. Esser; H. Merxmüller; E. Schnepf; H. Ziegler.

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 236 (1974)

Dujon, B.; P.P. Slonimski; L. Weill

Mitochondrial genetics IX. A model for recombination and

segregation of mitochondrial genomes in *Saccharomyces cerevisiae*.

Genetics 78, 415-437 (1974)

Dujon, B.; A. Kruszevska; P.P. Slonimski; M. Bolotin-

Fukuhara; D. Coen; J. Deutsch; P. Netter; L. Weill

Mitochondrial genetics X. Effects if UV-irradiation on

transmission and recombination of mitochondrial genes in *Saccharomyces cerevisiae*.

Molec. gen Genet. 137, 29-72 (1975)

Ephrussi, B.

Cytoplasmic heredity in yeast.

In: Nucleo-cytoplasmic relation in microorganisms.

Clarendon Press, Oxford, England 13-50 (1953)

Ephrussi, B.; H. Marguerie-Hollinger; H. Roman

Suppressiveness: a new factor in the genetic determinism
of the synthesis of respiratory enzymes in yeast.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 41, 1065-1071 (1955)

Faye, G.; H. Fukuhara; C. Grandchamp; J. Laskowska; F.

Michel; J. Casey; G.S. Getz; J. Locker; M. Rabinowitz;

M. Bolotin-Fukuhara; D. Coen; J. Deutsch; B. Dujon; P. Netter;

P.P. Slonimski

Mitochondrial nucleic acids in petite colonie mutants:
deletion and repetition of genes.

Biochimie 55, 779-792 (1973)

Gillham, N.

Genetic analysis of the chloroplast and mitochondrial
genomes.

Ann. Rev. Genet. 8 347-393 (1974)

Goldring, E.S.; L.J. Grossman; D. Krupnik; D.R. Cryer;

J. Marmur

The petite mutation in yeast. Loss of mitochondrial desoxy-
ribonucleic acid during unduction of petites with ethidium
bromide.

J. Mol. Biol. 52, 323-335 (1970)

Goldthwait, C.D.; D.R. Cryer; J. Marmur

Effect of carbon source on the replication and transmission
of yeast mitochondrial genomes.

Molec. gen. Genet. 133, 87-104 (1974)

Handwerker, A.; R.J. Schweyen; K. Wolf; F. Kaudewitz

Evidence for an extrakaryotoc mutation affecting the
maintenance of the rho-factor in yeast.

J. of Bact. 133, 1307-1310 (1973)

Handwerker, A.

Charakterisierung einer mitochondrial vererbten, konditionell
atmungsdefekten Mutante der Bäckerhefe *Saccharomyces*
cerevisiae.

Dissertation München (1975)

Kleese, R.A.; R.C. Grotbeck; J.R. Snyder

Recombination among three mitochondrial genes in yeast
(*Saccharomyces cerevisiae*).

J. of Bacter. 112, 1023 - 1025 (1972)

Kutzleb, R.; R.J. Schweyen; F. Kaudewitz

Extrachromosomal inheritance of paromomycin resistance in
yeast. Isolation and characterization of mutants.

Molec. gen. Genet. 125, 91-98 (1973)

Locker, J.; M. Rabinowitz; G.S. Getz

Tandem inverted repeats in mitochondrial DNA of petite
mutants of *S. cerevisiae*.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71, 1366-1370 (1974)

Locker, J.; M. Rabinowitz; G.S. Getz

Electron microscopic and renaturation kinetic analysis
of mitochondrial DNA of cytoplasmic petite mutants of
Saccharomyces cerevisiae.

J. molec. Biol. 88, 489-507 (1974b)

Nagley, P.; A.W. Linnane

Mitochondrial DNA deficient petite mutants of yeast.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 39, 989-996 (1970)

Nagley, P.; A.W. Linnane

Biogenesis of mitochondria. XXI. Studies on the nature of
the mitochondrial genome in yeast: the degenerative effect
of ethidium bromide on mitochondrial genetic information
in a respiratory competent strain.

J. Mol. Biol. 66, 181-193 (1972)

Netter, P.; E. Petrochilo; P.P. Slonimski; M. Bolotin-

Fukuhara; D. Coen; J. Deutsch; B. Dujon

Mitochondrial genetics VII. Allelism and mapping studies
of ribosomal mutants resistant to chloramphenicol, erythro-
mycin and spiramycin in *S. cerevisiae*.

Genetics 78, 1063-1100 (1974)

Sager, R.

Cytoplasmic genes and organelles.

New York and London: Academic Press Inc. (1972)

Schatz, G.; T.L. Mason

The biosynthesis of mitochondrial proteins.

Ann. Rev. of Biochem. 43, 51-87 (1974)

Schweyen, R.J.; F. Kaudewitz

On the formation of ρ^- petites in yeast. I. Multifactorial mitochondrial crosses ($\rho^+ \times \rho^+$) involving a mutation conferring temperature sensitivity of ρ factor stability. Molec. gen. Genet. in press (1976)

Schweyen, R.J.; U. Steyrer; F. Kaudewitz; B. Dujon; P.P. Slonimski

Mapping of mitochondrial genes in *Saccharomyces cerevisiae*. Population and pedigree analysis of retention or loss of four genetic markers in ρ^- -cells. Molec. gen. Genet. 146, 117-132 (1976a)

Schweyen, R.J.; B. Backhaus; S. Mathews; F. Kaudewitz

On the formation of ρ^- petites in yeast. V. Mapping by recombination and ρ^- -deletion analysis of mitochondrial genes in *Saccharomyces cerevisiae*. In: Genetics, biogenesis and bioenergetics of mitochondria. Bandlow, W.; R.J. Schweyen; D.Y. Thomas; K. Wolf; F. Kaudewitz eds. de Gruyter Berlin, New York (1976b)

Schweyen, R.J.; B. Weiss-Brunner; B. Backhaus; F. Kaudewitz
Localization of seven gene loci on a circular map of the mitochondrial genome of *Saccharomyces cerevisiae*. In: The genetic function of the mitochondrial DNS. C. Saccone; A.M. Kroon eds. North Holland Publishing Company Amsterdam, Oxford, New York (1976c)

Sherman, F.

Respiration deficient mutants of yeast. I. Genetics
Genetics 40, 375 - 385 (1963)

Slonimski, P.P.; Tzagaloff A.

Localization in yeast mitochondrial DNA of mutations expressed in a deficiency of cytochrom-oxidase and/or coenzym QH₂-cytochrom c reductase.

Eur. J. Biochem. 61, 27-41 (1976)

Visconti, N.; M. Delbrück

The mechanism of gentie recombination in phage.

Genetics 38, 5-33 (1953)

Weiss-Brummer, B.

Kartierung mitochondrialer Mutationsorte mit Hilfe von rho⁻ Deletionsmutanten bei *Saccharomyces cerevisiae*.

Diplomarbeit München (1976)

Weislogel, P.O.; R.A. Butow

Low temperature and chloramphenicol induction of respiratory deficiency in a cold sensitive mutant of *Saccharomyces cerevisiae*.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67, 52-58 (1970)

Weislogel, P.O.; R.A. Butow

Control of the mitochondrial genome in *Saccharomyces cerevisiae*. The fate of mitochondrial membrane proteins and mitochondrial desoxyribonucleic acid during petite induction.

J. of Biol. Chemistry 246/14, 5113-5119 (1971)

Williamson, D.H.

The effect of environmental and genetic factors on the replication of mitochondrial DNA in yeast.

In: Control of organelle developement. Symposia of the society of experimental biology XXIV., P.Miller ed.

Cambridge: at the university press 247-276 (1970)

Wolf, K.; B. Dujon; P.P. Slonimski

Mitochondrial genetics V. Multifactorial crosses involving a mutation conferring paromomycin resistance in *Saccharomyces cerevisiae*.

Molec. gen. Genet. 125, 53-90 (1973)

Z U S A M M E N F A S S U N G

Untersuchungen zum Vorgang der ρ^- Bildung wurden an drei karyotischen (tsp-20, tsp-25, tsp-30) Mutanten und einer mitochondrialen (tsm-8) Mutante der Bäckerhefe durchgeführt.

In allen vier Mutanten erfolgt konditionell mit großer Häufigkeit die Mutation $\rho^+ \rightarrow \rho^-$. Die ρ^- Bildung ist ein mit dem Zellwachstum bei 36°C kontinuierlich fortschreitender Prozess, der innerhalb von 12 Generationen zu annähernd 100% ρ^- Zellen führt.

Mit der Zunahme an ρ^- Zellen nimmt die Fähigkeit der Population, mitochondriale Marker in Zygoten zu übertragen, ab. Als Funktion dieser Abnahme der Transmission ändert sich die Häufigkeit der Rekombinanten in einer für homosexuelle ($\omega^+ \times \omega^+$, $\omega^- \times \omega^-$) und heterosexuelle ($\omega^+ \times \omega^-$) Kreuzungen charakteristischen Weise.

Alle experimentellen Ergebnisse zeigen gute Übereinstimmung mit dem theoretischen Modell der Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene (Dujon et al., 1975).

Der Vorgang der ρ^- Bildung in den ts-Mutanten kann folgendermaßen charakterisiert werden: 1) Vermehrung von Zellen der ts-Mutanten bei 36°C bewirkt einen Verlust genetischer Information durch Deletion beliebiger Teile des mitochondrialen Genoms. Dies hat eine rasche Bildung von ρ^- Zellen zur Folge. 2) In der Mehrzahl der ρ^- Zellen verbleiben Sequenzen des mitochondrialen

Genoms, die in Zygoten und ihren diploiden Nachkommen transmittiert werden können und mit ρ^+ mitDNS rekombinieren. Der Anteil an ρ^0 Zellen in der Population ist gering. 3) Die mitDNS Synthese ist nicht temperatursensibel, sie schreitet während der ρ^- Bildung fort. 4) Die Gesamtheit der in ρ^- verbliebenen mitDNS Sequenzen umfassen das gesamte mitochondriale Genom. Die durch ts-Mutationen induzierten ρ^- Zellen sind besonders geeignet, Deletionskartierung durchzuführen.

Die mitochondriale und die karyotischen ts-Mutationen unterscheiden sich nicht in ihrer Wirkungsweise während der ρ^- Bildung hinsichtlich Transmission, Rekombination und Segregation mitochondrialer Gene. Sie kann mit der Wirkung der ρ^- Bildung durch UV-Bestrahlung (Dujon et al., 1975) verglichen werden. Im Gegensatz zu UV-Bestrahlung kann jedoch der Input mitochondrialer Information beliebig von 0 bis 100 ohne Änderung der Paarungs- und Keimungsfähigkeit der Zellen variiert werden.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1973 bis August 1976 am Genetischen Institut der Universität München unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. F. Kaudewitz durchgeführt.

Am Ende dieser Arbeit möchte ich allen herzlich danken, die zu ihrer Entstehung beigetragen haben. Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. Kaudewitz für die Anregung und großzügige Förderung der Arbeit, Herrn Dr. R.J. Schweyen für die Unterstützung bei der experimentellen Durchführung und stete und anregende Diskussionsbereitschaft, Herrn Dr. B. Dujon und Herrn Prof. Dr. P.P. Slonimski für die Bereitstellung des Computerprogramms, die Unterstützung bei der Computeranalyse und wertvolle Diskussionen.

Der Universität München danke ich für die Bewilligung eines Graduierten-Stipendiums, und der Kommission der Europäischen Gemeinschaften für die Finanzierung eines vierwöchigen Arbeitsaufenthaltes im "Centre Genetique Moleculaire du C.N.R.S" (Frankreich).

LEBENS LAUF

Ich wurde am 31. Oktober 1947 in Burghausen, Kreis Alt-ötting geboren. Meine Eltern sind Dr. Jürgen Smidt und Susanne Smidt, geborene Schulze. Von 1954 - 1958 besuchte ich die Volksschule Solln in München und wechselte dann auf das Luisengymnasium in München über, wo ich im Juli 1967 das Abitur ablegte. Von 1967 - 1972 studierte ich Biologie an den Universitäten München und Tübingen. Mai 1972 legte ich an der Universität München die mündliche Diplomprüfung ab, anschließend fertigte ich bis April 1973 am Genetischen Institut der Universität München meine Diplomarbeit an. Ab Mai 1973 arbeitete ich am Genetischen Institut der Universität München unter Anleitung von Herrn. Prof. Dr. F. Kaudewitz an der vorliegenden Arbeit. Seit August 1974 bin ich mit Dr. Horst Backhaus verheiratet.

